FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1909

THÈSE

N° 268

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Jeudi 27 Mai 1909

PAR

A. BLANCHETIÈRE

CONTRIBUTION

A

L'ÉTUDE BIOLOGIQUE DE QUELQUES VARIÉTÉS

DU GENRE

SPOROTRICHUM PATHOGENES

POUR L'HOMME

Président : **Professeur Raymond.**

Juges : **Debove**, **Chauffard** (Professeurs.), **Castaigne** (Agrégé.)

PARIS
LIBRAIRIE CROVILLE-MORANT
20, RUE DE LA SORBONNE, 20

1909

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Le Doyen	M. LANDOUZY.
Professeurs	MM.
Anatomie	NICOLAS.
Physiologie	Ch. RICHET.
Physique médicale	GARIEL.
Chimie organique et Chimie générale	GAUTIER.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales	BOUCHARD.
Pathologie médicale	BRISSAUD. / DEJERINE.
Pathologie chirurgicale	LANNELONGUE.
Anatomie pathologique	P. MARIE.
Histologie	PRENANT.
Opérations et appareils	HARTMANN.
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET.
Thérapeutique	GILBERT.
Hygiène	CHANTEMESSE.
Médecine légale	THOINOT.
Histoire de la médecine et de la Chirurgie	CHAUFFARD.
Pathologie expérimentale et comparée	ROGER.
Clinique médicale	HAYEM. / DIEULAFOY. / DEBOVE. / LANDOUZY.
Maladies des enfants	HUTINEL.
Clinique des mal. mentales et des mal. de l'encéphale	G. BALLET.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GAUCHER.
Clinique des maladies du système nerveux	RAYMOND.
Clinique chirurgicale	DELBET. / QUENU. / RECLUS. / SEGOND.
Clinique Ophtalmologique	DE LAPERSONNE.
Clinique des maladies des voies urinaires	ALBARRAN.
Clinique d'accouchements	BAR. / PINARD. / RIBEMONT-DESSAIGNES.
Clinique gynécologique	POZZI.
Clinique chirurgicale infantile	KIRMISSON.
Clinique thérapeutique	A. ROBIN.

Agrégés en exercices

MM.			
	CLAUDE.	LABBE Marcel,	MULON.
	COUVELAIRE.	LANGLOIS.	NICLOUX.
AUVRAY.	CUNEO.	LAUNOIS.	NOBECOURT.
BALTHAZARD.	DEMELIN.	LECENE.	OMBREDANNE.
BRANCA.	DESGREZ.	LEGRY.	POTOCKI.
BEZANÇON Fernand.	DUVAL Pierre.	LENORMANT.	PROUST.
BRINDEAU.	GOSSET.	LOEPER.	RENON.
BROCA André.	GOUGET.	MACAIGNE.	RICHAUD.
BRUMET.	JEANNIN.	MAILLARD.	RIEFFEL.
CARNOT.	JEANSELME.	MARION.	SIGARD.
CASTAIGNE.	JOUSSET André.	MORESTIN.	ZIMMERN.

Par délibération en date du 9 Décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation, ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/contributionletu0000abla

Sur le point de terminer mes études médicales, c'est pour moi un devoir impérieux d'adresser mes remerciements aux maîtres qui m'ont appris le peu que je sais : Messieurs le Docteur Barth, les Professeurs Debove, Pinard et Delbet, le Professeur Agrégé Wallich.

A la mémoire du Professeur Berger j'adresse un souvenir profondément reconnaissant.

Dans ces différents services, j'ai rencontré trois chefs de clinique au contact desquels j'ai beaucoup appris, ce sont : les Docteurs Rathery, Mouchotte et Guibé, ce dernier actuellement chirurgien des hôpitaux.

Monsieur le Professeur Gley, du Collège de France, et Monsieur le Professeur Agrégé Desgrez m'ont témoigné, à plusieurs reprises et dans des conditions particulières, un intérêt dont je leur suis vivement reconnaissant.

Monsieur le Professeur Pouchet m'a accueilli, depuis plusieurs mois, à son laboratoire et m'a témoigné une bienveillance dont je sens tout le prix. Ses collaborateurs, les Docteurs Brissemoret et Chevallier, sont devenus pour moi deux amis.

Je ne saurais oublier non plus mes maîtres de l'Institut Pasteur, et tout particulièrement le Docteur Binot, sous la direction immédiate duquel j'ai travaillé pendant quelques mois.

Mais, par-dessus tout, j'ai contracté une lourde dette de reconnaissance vis-à-vis de Monsieur le Professeur Raymond et de Monsieur le Professeur Agrégé Claude : le premier m'a fait le grand honneur de me confier, depuis plusieurs années, le service

chimique à son laboratoire, et, enfin, a bien voulu accepter la présidence de ma thèse ; le second m'a admis à l'honneur d'une collaboration qui a abouti à la publication de la presque totalité des travaux que j'ai exécutés jusqu'ici. Vis-à-vis de ces deux maîtres, je ne saurai jamais m'acquitter. Auprès d'eux, j'ai rencontré un grand nombre de travailleurs qui m'ont accueilli avec la plus franche cordialité. Je citerai parmi eux les Docteurs Alquier et Lhermitte, chefs de laboratoire ; Lejonne, Rose, Touchard et Beaudouin, chefs de clinique, et enfin le Docteur Schmiergeld, actuellement à New-York.

CONTRIBUTION

A L'ÉTUDE BIOLOGIQUE DE QUELQUES VARIÉTÉS

DU GENRE

SPOROTRICHUM PATHOGENES POUR L'HOMME

CHAPITRE PREMIER

Historique.

En 1896 Schenk[1] eut l'occasion d'examiner un malade porteur d'un petit abcès de l'index droit en un point où ce sujet s'était blessé avec un clou trois mois auparavant. L'incision de cet abcès donna lieu à l'évacuation d'un liquide aqueux non puriforme, mais trois semaines après apparurent des ulcérations aux 2e et 3e articulations méta-carpo-phalangiennes et en sept semaines huit abcès semblables se formèrent ayant tous même contenu.

Ces abcès indolores ne déterminèrent pas de fièvre.

L'infection suivit une voie ascendante, bientôt la main et l'avant-bras sont parsemés d'abcès ouverts ou non ulcérés, ou d'indurations circonscrites.

L'un de ces abcès incisé laissa échapper un liquide puriforme qui, cultivé, donna lieu au développement d'un champignon filamenteux mélangé à du staphylocoque.

1. Schenk. — *On refractory subcutaneous abscesses caused by fongus possibily related to the Sporotricha.* — John Hopkins *Hospital medical Bulletins*, 1898, p. 286.

Le pus d'une autre nodosité ensemencé en prenant des précautions d'asepsie rigoureuse donna lieu au développement de cultures pures du même champignon.

Ce champignon fut catalogué par Smith[1] comme appartenant au genre sporotrichum.

Trois ans après Brayton[2] rapporte une observation calquée sur la précédente : il s'agissait d'un jeune fleuriste qui, s'étant piqué au doigt avec un fil de fer, vit survenir une série d'abcès chroniques à contenu gélatineux dont l'évolution rappelle absolument celle du cas précédent. Malheureusement l'examen bactériologique du pus ne fut pas fait.

En 1900, Hektœn et Perkins[3] signalent, eux aussi, un cas semblable dans lequel on retrouve la même série d'abcès sous-cutanés multiples après blessure du doigt par un coup de marteau. On dut ouvrir plus de trente abcès, du pus desquels on isola en culture pure un champignon que Hektœn identifia avec le Sporotrichum de Schenk et qu'il dénomma abusivement Sporothrix Schenkii.

Quelque intéressantes que fussent ces observations elles étaient à peu près totalement ignorées en Europe lorsque en 1903 de Beurmann et Ramond[4] signalèrent, eux aussi, un cas d'abcès sous-cutanés multiples d'origine mycosique. Il s'agissait d'un homme présentant des nodosités qui avaient fait penser à un cas de ladrerie. Au cours de l'extirpation d'un de ces pseudokystes la membrane d'enveloppe se rompit

1. Smith. — Cité par Beurmann et Gougerot : *Les sporotrichoses hypodermiques.* — *Annales de dermatologie et syph.*, 1906, p. 998.

2. Brayton. — *Chronic abscesses.* — *Indianapolis medical Journal*, 1899, XVIII, p. 272.

3. Hektœn et Perkins. — *Refractory subcutaneous abscesses caused by Sporothrix Schenkii. A new pathogenic fongus.* — *Journal of experimental medicine*, 1900, p. 77 et *Journal of the Boston Soc. of medical sciences* CLXXIX, p. 179, 1900.

4. De Beurmann et Ramond. — *Abcès sous-cutanés multiples d'origine mycosique.* — *Ann. Dermat.*, 1903, 678.

livrant passage à un flot de pus. Les bords de la plaie, malgré sa désinfection par le sublimé à 4/1000, donnèrent lieu à une série de récidives qui ne cédèrent point au traitement chirurgical, mais disparurent sous l'influence du traitement ioduré conseillé par le Dr. Sabouraud. Ces récidives permirent à de Beurmann et Ramond d'examiner le pus et de reconnaître l'absence apparente de microorganismes à l'examen microscopique direct, mais ils obtinrent le développement d'un champignon par ensemencement du pus sur gélose glycosée ou glycérinée. Les cultures de ce champignon étaient pures lorsqu'on prenait les précautions d'asepsie voulues pour prélever purement le pus. Ces auteurs signalent également le polymorphisme de ce champignon sur les différents milieux surtout dans les repiquages.

Ce champignon fut déterminé par Matruchot et Ramond[1] comme appartenant au groupe des mucédinées et au genre Sporotrichum : « La forme, la disposition, la couleur brune des Spores, la fructification en formes de manchons cylindriques disposés en bouquets à l'extrémité des filaments constituent, avec le substratum originel du champignon, un ensemble de caractères qui différencie nettement cette espèce de tous les autres sporotrichum. Nous proposons de le dénommer sporotrichum Beurmanni. »

Cette nouvelle observation passa aussi injustement inaperçue que les précédentes et ce n'est qu'en 1906 que de Beurmann et Gougerot[2] à propos d'un nouveau cas firent une étude détaillée de la question faisant connaître les travaux américains inconnus en Europe et attirant l'attention sur un

1. Matruchot et Ramond. — *Un type nouveau de champignon pathogène chez l'homme.* — *C. R. Soc. biol.*, 1905, II, 379.

2. De Beurmann et Gougerot. — *Les Sporotrichoses hypodermiques.* — *Ann. Dermat.*, 1906, pp. 837, 914 et 993.

certain nombre d'observations d'affections mycosiques non classées (cas de Nattan-Larrier et Loeper, Brissaud et Rathery, Lesné et Monnier-Vinard) que des recherches ultérieures démontrèrent en 1907 être des sporotrichoses.

En 1907 et 1908 les travaux se succédèrent chaque jour plus nombreux apportant soit de nouveaux cas, soit des éclaircissements sur les cas anciens et sur le mécanisme de cette infection.

C'est ainsi que successivement sont apportées les trois preuves que Pasteur exigeait pour considérer un microorganisme comme l'agent causal d'une infection :

1° Constatation du microorganisme dans les lésions. — Ce fut la dernière des trois preuves apportée. Dans leur premier travail de Beurmann et Ramond[1] déclarent que dans le pus ou les parois de l'abcès, impossible de retrouver le champignon. Ce n'est que plus tard que de Beurmann et Gougerot[2], guidés par les formes que prend le sporotrichum dans l'infection expérimentale du rat et dans la phagocytose intrapéritonéale du cobaye, retrouvent, dans le pus et dans les coupes, des corpuscules analogues qu'ils dénomment forme courte oblongue du sporotrichum. Cinq mois après Lesné et Monier-Vinard[3] retrouvent ces formes courtes dans le pus et enfin de Beurmann et Gougerot[4], revenant sur cette

1. De Beurmann et Ramond. — *Abcès sous-cutanés multiples d'origine mycosique.* — *Ann. Dermat.*, 1905, p. 678.

2. De Beurmann et Gougerot. — *Les Sporotrichoses hypodermiques.* — *Ann Dermat.*, 1906, pp. 857, 914 et 995.

3. Lesné et Monnier-Vinard. — *Abcès sous-cutanés chroniques et multiples dus à un champignon filamenteux, sporotrichose cutanée.* — *Bull. Soc. méd. hôp.*, 1907 (3), XXIV, 268.

4. De Beurmann et Gougerot. — *Douzième observation de sporotrichose. C. R. Soc. biol.*, 21 fév. 1908, p. 255.

question, en rendent la constatation facile au moyen de l'autoculture du pus en tube stérile.

Ce que je viens de dire concernant la rareté du parasite dans les lésions ne s'applique qu'aux lésions spontanées car, ainsi que l'ont fait remarquer de Beurmann et Gougerot[1] : « Dans les lésions expérimentales les sporotricha sont, au contraire, presque toujours nombreux et faciles à déceler.

2° **Culture du micro-organisme.** — Ce fut la première réalisée des trois conditions dont je parlais plus haut. Il est vrai que sa réalisation était particulièrement facile, les sporotricha étant des organismes en somme peu difficiles. Il n'en demeure pas moins constant qu'une culture régulière ne s'obtient que sur gélose glycosée de Sabouraud, à froid et en tubes non capuchonnés, propriétés culturales qui lui sont communes avec un grand nombre d'autres champignons parasites[2].

3° **Inoculation à l'animal. — Sporotrichose expérimentale.** — Schenk[3] par la voie sous-cutanée eut, chez le chien, des succès d'autant plus importants qu'ils reproduisirent l'un des principaux caractères de l'affection humaine : la gomme, et que la rétroculture du contenu fut positive.

Hektœn[4] obtint chez deux souris blanches une pyémie avec infection générale et, à l'autopsie, trouva le micro-organisme dans le foie, la rate, les ganglions abdominaux.

En France, de Beurmann et Ramond[5] n'eurent que des

1. De Beurmann et Gougerot. — *Coloration du Sporotrichum Beurmanni dans les tissus.* — *C. R. Soc. Biol.*, 21 fév. 1908, p. 255.
2. Bodin. — *Les champignons parasites de l'homme*, p. 49 (collection Léauté).
3. Schenk. — *Loc. cit.*
4. Hektœn. — *Loc. cit.*
5. De Beurmann et Ramond. — *Loc. cit.*

insuccès, puis, les premiers, de Beurmann et Gougerot[1] obtinrent des succès presque constants par deux méthodes : *a*) Inoculation sous-cutanée aux animaux nouveau-nés; *b*) la technique indiquée par Pinoy dans des cas analogues : inoculations à la patte du rat. Ces deux méthodes donnèrent lieu à des abcès locaux et métastatiques dont le pus permit la rétroculture du parasite. Ces auteurs ont donc, les premiers, obtenu la reproduction de la gomme disséminée.

Depuis lors, différents expérimentateurs ont reproduit la maladie chez un grand nombre d'animaux.

Chez l'homme, des opérations malencontreuses ont démontré la possibilité de l'infection expérimentale : récidives du malade de Schenk au voisinage même du lieu de l'intervention et les récidives du premier malade de De Beurmann et Ramond sur les points de suture même de la plaie opératoire. J'ajouterai qu'un accident de laboratoire non encore publié en a fourni la preuve absolue.

D'où provient le sporotrichum ?

Dans certains cas, qui paraissent rares, l'infection paraît pouvoir se transmettre directement d'homme à homme. C'est ce que tendrait à démontrer un cas publié par Widal et Joltrain[2] qui trouvèrent dans une même famille deux individus atteints de sporotrichose, l'un en pleine évolution, l'autre guéri mais chez lequel le diagnostic rétrospectif de sporotrichose fut fait d'une façon certaine par les procédés que j'indiquerai plus loin. Cette observation est, je crois, la seule de ce genre publiée jusqu'ici. Mais le sporotrichum peut encore exister à l'état de saprophyte chez l'homme, de

1. De Beurmann et Gougerot. — *Les sporotrichoses hypodermiques.* — *Ann. Dermat.*, 1906, p. 837.

2. Widal et Joltrain. — *Sporotrichose chez deux membres d'une même famille.* — *Bull. Soc. méd. hôp.* (3), XXVI, 647.

parasite chez l'animal ou de saprophyte dans la nature :

Parasitisme chez l'animal. — Ce parasitisme fut rencontré pour la première fois par Lutz et Splendore[1] qui ne le recherchaient nullement. Ces auteurs, en examinant systématiquement des rats, lors de la dernière épidémie de peste de São Paulo, découvrirent un certain nombre de ces rongeurs atteints d'abcès chroniques du pus desquels ils isolèrent un champignon filamenteux. Peu après, Lutz et Splendore retrouvèrent plusieurs cas spontanés de la même mycose sur des rats blancs élevés à leur laboratoire. Ils réunirent ainsi une quarantaine de cas de cette mycose dont l'agent fut identifié au sporotrichum Beurmanni. Puis Gougerot et Caraven[2] signalent trois cas de sporotrichose spontanée du chien : « Chez deux de ces chiens la mycose s'est révélée par des gommes fistulisées du cou; l'un d'eux a guéri; chez le troisième la mycose a déterminé une péritonite à granulations pseudo-tuberculeuses avec gommes multiples du foie et métastases pulmonaires débutantes, infection rapidement mortelle ». Dans ce même mémoire Gougerot et Caraven signalent que Fontoynont et Carougeau[3] étudient à Madagascar une sporotrichose spontanée du mulet.

Ces trois séries d'observations montrent la diffusion aussi bien géographique que zoologique des sporotricha. Or, on peut soupçonner cette diffusion zoologique d'être encore plus grande qu'on ne le pourrait penser *a priori*. En effet, les sporotricha ne sont pas rares dans la nature et Guéguen[4] cite,

1. Lutz et Splendore. — *Revista medica de São Paulo*, 1907.
2. Gougerot et Caraven. — *Sporotrichose spontanée du chien.* — *Presse médicale*, 1908.
3. Fontoynont et Carougeau. — *Lettre à de Beurmann* (citée dans un article précédent).
4. Guéguen. — *Les champignons parasites de l'homme et des animaux.* — *Thèse Agrég. Pharm. Paris*, 1904, p. 250.

d'après différents auteurs, six espèces de ce genre, parasites des insectes. Ce sont :

Sp. Globuliferum (Spegazzini). Découvert en Californie sur des cadavres de coléoptères.

Sp. Minimum (Spegazzini). Trouvé par cet auteur sur une fourmi de la République Argentine et par Brunaud à Saintes sur une araignée.

Sp. Parvulum (Passerini). Trouvé sur un frelon à Saintes.

Sp. Aranearum (Cavara). Trouvé en Italie sur des araignées.

Sp. Lecanii (Peck). Trouvé dans l'Amérique boréale sur des Lecanium.

Sp. Entomophilum (Peck). Trouvé par Lintner dans l'Amérique boréale sur des larves de Galerucella luteola.

La connaissance de ces faits devait évidemment porter à rechercher les sporotricha parasites de l'homme, d'une part chez les insectes courants avec lesquels nous sommes le plus souvent en contact, d'autre part chez les ecto-parasites communs à l'homme et aux animaux chez lesquels on a rencontré ce parasite. Jusqu'ici ces recherches, peu nombreuses d'ailleurs, sont restées négatives. Cependant de Beurmann et Gougerot[1] se sont préoccupés de cette question et ont démontré, par l'expérimentation, la possibilité d'une pareille

1. De Beurmann et Gougerot. — *Les sporotrichoses hypodermiques.* — *Ann. Dermat.*, 1906.

contamination : « Sur les milieux animaux il (le sporotrichum Beurmanni) pousse avec facilité; il cultive sur les insectes morts, sur les chenilles ou les mouches vivantes enfermées en tubes stériles et nourries de cultures sporotrichosiques ». La dissémination par les mouches dans des circonstances particulières ne fait donc pas de doute.

Saprophytisme chez l'homme. — La première idée de ce saprophytisme revient à de Beurmann et Gougerot[1] qui, le 7 juin 1907, le signalaient nettement. Dans une seconde communication[2] à propos du même malade, ils confirmaient leur façon de voir primitive en montrant la persistance du parasite dans le bucco-pharynx et le larynx de cet individu guéri. Deux cas nouveaux ont été retrouvés : l'un de Sicard, Bith et Gougerot[3], l'autre de Brissaud, Gougerot et Gy[4]. D'autre part, Letulle et Debré[5], à propos d'un cas de sporotrichose des muqueuses déjà étudié par de Beurmann, Gastou et Brodier[6], n'hésitent pas à s'exprimer ainsi : « Quelle que soit sa primordiale localisation sur la muqueuse de la bouche, du pharynx, du larynx ou même de la trachée, il est établi que le Sporotrichum Beurmanni peut vivre un temps indéterminé à l'état de saprophyte. »

Saprophytisme dans la nature. — De Beurmann et Gougerot[7] sur les légumes vendus aux Halles par leur malade

1. De Beurmann et Gougerot. — *Sporotrichose des muqueuses.* — *Bull. Soc. méd. hôp.* (3), XXIV, 585.
2. De Beurmann et Gougerot. — *Saprophytisme du Sporotrichum Beurmanni dans le buccopharynx et dans le larynx.* — *Bull. Soc. méd. hôp.* (3), XXIV, 1069.
3. Sicard, Bith et Gougerot. —
4. Brissaud, Gougerot et Gy. —
5. Letulle et Debré. — *Sporotrichose de la peau, de la bouche, du pharynx, du larynx et de la trachée.* — *Bull. Soc. méd. hôp.* (3), XXV, 379.
6. De Beurmann, Gastou et Brodier. — *Soc. méd. hôp.*, 25 octobre 1907.
7. De Beurmann et Gougerot. — Cités par Gastou et Brodier.

n° XII avaient pu découvrir le Sporotrichum Beurmanni. Cette constatation et le rapprochement qu'on peut faire entre la sporotrichose et l'actinomycose devaient faire rechercher le sporotrichum sur les végétaux.

A priori, on peut le rechercher soit à l'état conidien, soit à l'état de forme parfaite. Je dirai tout de suite que cette dernière tentative a complètement échoué : jamais on n'a rencontré de forme parfaite de ce champignon qui doit donc, jusqu'à nouvel ordre, rester classé dans les fungi imperfecti. Mais, dans la recherche des formes conidiennes, Gougerot fut plus heureux : pendant un séjour qu'il fit dans les Alpes en août 1908, il préleva sur diverses plantes une cinquantaine de colonies présentant certains traits de formes spéciales qu'on trouve dans les cultures de sporotrichum. Comme on pouvait s'y attendre, le plus grand nombre de ces colonies se montrèrent formées de champignons divers, mais trois permirent d'arriver à des cultures de sporotrichum qui furent identifiées par de Beurmann et Gougerot[1] au Sporotrichum Beurmanni. Cette identification fut faite à la fois par les caractères culturaux, l'examen du mode de reproduction et l'inoculation à l'animal. A ce dernier point de vue, je dois signaler l'extrême facilité de l'exaltation de la virulence de ce parasite par passage chez le rat : l'inclusion sous la peau du rat d'un grain d'avoine parasité donne lieu à un simple abcès d'élimination qui guérit spontanément, mais dont cependant le pus permet la rétroculture.

L'inoculation de 1 cc. d'émulsion de la culture du saprophyte dans le péritoine d'un premier rat ne donna lieu cliniquement à aucun symptôme. Sacrifié au 27e jour, l'animal

1. De Beurmann et Gougerot. — *Découverte du Sporotrichum Beurmanni dans la nature.* — *Bull. Soc. méd hôp.* (3), XXXVI, 735.

se montra cependant porteur de trois petits abcès péritonéaux, mais le pus de ces abcès par passage de rat à rat arriva dès le troisième passage à reproduire la forme généralisée septicémique de l'infection.

— **Quelles sont les voies de pénétration et de dissémination du contage ?**

Le rôle du traumatisme est indéniable dans les premières observations de lymphangite sporotrichosique publiées en Amérique : blessure du doigt avec un clou chez le malade de Scheuk, piqûre du doigt avec un fil de fer chez le malade de Brayton, blessure du doigt par coup de marteau chez le malade de Hektoen et Perkins. Il semble bien que, dans ces cas et un certain nombre d'autres, l'inoculation a été directe par un agent traumatisant contaminé.

De même on conçoit aussi très bien qu'un sujet, possédant à l'état de saprophyte le sporotrichum dans sa cavité bucco-pharyngée, puisse se contaminer en suçant une plaie superficielle.

Les ulcérations sporotrichosiques pharyngiennes et buccales s'expliquent également bien en tenant compte du fait de la présence saprophytique du sporotrichum dans la cavité bucco-pharyngienne, mais pour les sporotrichoses disséminées, l'étiologie reste obscure. Les recherches expérimentales de De Beurmann et Gougerot[1] portent ces auteurs à incriminer, en dehors du saprophytisme, l'apport alimentaire du sporotrichum dans l'étiologie de certaines sporotrichoses gommeuses disséminées qu'ils ont pu reproduire expérimentalement chez le cobaye nouveau-né en le nourrissant de lait parasité[2].

1. De Beurmann et Gougerot. — *Saprophytisme du Sporotrichum Beurmanni dans le buccopharynx et dans le larynx.* — *Bull. Soc. méd. hôp.* (3), XXIV, 1069.
2. De Beurmann et Gougerot. — *Sporotrichose expérimentale généralisée sous-*

Une fois inoculé le parasite peut donner lieu seulement à un accident purement local ou se propager de proche en proche par voie lymphatique causant la lymphangite sporotrichosique si nettement signalée dès le début par les auteurs américains. Mais la propagation du parasite peut encore se faire par voie sanguine ainsi qu'on l'a vu dès le début par l'expérimentation (septicémie de la souris blanche de Schenk) et comme l'ont signalé Widal et Weill[1] chez l'homme : « ...Enfin nous avons pu, par l'hémoculture, isoler dans le sang le parasite. Cette constatation, qui jusqu'ici n'avait pas été faite dans la sporotrichose spontanée de l'homme, nous fournit la preuve que la forme gommeuse disséminée est le résultat, comme on pouvait s'y attendre, d'une véritable septicémie. C'est, charrié par le sang, que le parasite vient s'arrêter en divers points du derme pour y coloniser et présider au développement des nodosités. »

Le sporotrichum ne se laisse même pas arrêter par le filtre placentaire comme l'ont démontré de Beurmann, Gougerot et Vaucher[2] qui s'expriment ainsi : « Une femelle saine fécondée par un rat sain a subi, quelques jours après la fécondation, une infection expérimentale généralisée, prouvée par la culture du sang et cette infection a suffi pour déterminer une hérédo-sporotrichose. La transmission s'est faite par la voie artérielle jusqu'au placenta (*Loc. cit.*, p. 875). »

« L'infection sporotrichosique du père et de la mère antérieure à la fécondation a provoqué l'hérédo-sporotrichose chez tous les petits (*Loc. cit.*, p. 879). » L'infection des petits était

cutanée du cobaye nouveau-né nourri de lait parasité. — Ann. Dermat., août-sept. 1907, p. 499.

1. Widal et Weil. — *Sporotrichose gommeuse disséminée à noyau très confluents. Présence des parasites dans le sang. — Bull. Soc. méd. hôp.* (3), XXV, 947.

2. De Beurmann, Gougerot et Vaucher. — *Hérédo-sporotrichose expérimentale. — Bull. Soc. méd. hôp.*, XXVI. 876

marquée par une ascite sporotrichosique (dont la ponction et la culture ont permis le diagnostic causal), des lésions du foie et des éruptions pemphigoïdes.

— **Quelles sont les réactions de l'organisme animal vis-à-vis des sporotricha ?**

Ce sont les réactions générales de l'organisme vis-à-vis de toute infection : une active phagocytose a été signalée par tous les auteurs.

Les humeurs de l'individu atteint acquièrent vis-à-vis de l'organisme infectant des propriétés spéciales analogues à celles qui ont été signalées vis-à-vis d'un grand nombre de bactéries et en particulier la propriété d'agglutiner cet organisme.

C'est Roger[1] qui le premier signala cette propriété du sérum des animaux vaccinés contre le champignon du muguet, en montrant que cet organisme ensemencé dans un tel sérum se développe en donnant des éléments qui ne tardent pas à se réunir en amas et, ces amas, à tomber au fond de la culture. De plus ce sérum possède un pouvoir bactéricide, le parasite ne peut y vivre plus de 4 à 5 jours.

Partant de la connaissance de ces faits, Widal et Abrami[2] essayèrent de reproduire pour le sporotrichum les expériences que Roger avait instituées pour l'oïdium albicans. Ces tentatives ont échoué : la culture en sérum vacciné a présenté un développement normal, il ne s'est pas formé d'amas floconneux. Au microscope cette culture n'a pas présenté non plus de caractère spécial. Enfin le sérum n'a montré

1. Roger. — *Modifications du sérum chez les animaux vaccinés contre l'oïdium lbicans.* — *Soc. Biol.*, 4 juillet 1906.

2. Widal et Abrami. — *Séro-diagnostic de la sporotrichose par la sporo-agglutination.* — *La coagglutination mycosique et son application au diagnostic de l'actinomycose.* — *La réaction de fixation.* — *Bull. Soc. méd. hôp.* (3) XXV, p. 947.

aucun pouvoir bactéricide. Widal et Abrami sont alors revenus au procédé des dilutions comme dans la fièvre typhoïde, mais il a fallu y apporter des modifications. En effet l'obtention d'une émulsion homogène de culture a été impossible. A cause de la présence du thalle filamenteux il existe toujours de faux amas qui masquent tout; mais, au microscope, dans les mailles du tissu filamenteux, Widal et Abrami virent les spores agglutiner. En se débarrassant du thalle filamenteux et en ne conservant que les spores on pouvait donc espérer arriver à créer une sporoagglutination.

Widal et Abrami sont arrivés très simplement à ce résultat en filtrant sur papier mouillé une émulsion de vieille culture sporifère, le mycélium est retenu par le papier et le liquide filtré ne contient plus que des spores.

La technique est alors identique à celle employée dans le cas du bacille d'Eberth.

La mensuration du pouvoir agglutinant montre que l'agglutination s'effectue à un taux très élevé mais avec de fortes variations en rapport avec l'âge de la culture.

Spores provenant de cultures de	Taux de l'agglutination
1 mois	1/800
1 mois 1/2	1/300
plus d'un an	1/200
17 jours	1/80

Les spores provenant d'une culture âgée d'un mois paraissent donc les plus agglutinables, ce sont celles qui conviennent le mieux pour l'étude de la séro-réaction.

Le sérum de malades atteints d'affections non mycosiques n'a jamais agglutiné au delà du 1/20^{e}. Par contre le sérum de malades atteints de mycoses diverses et surtout d'actino-

mycose agglutine l'émulsion de spores sporotrichosiques à un taux beaucoup plus élevé jusqu'au 1/150e et Widal et Abrami concluent : « Les recherches que nous poursuivons avec M. Joltrain montrent donc que l'agglutination mycosique n'a pas la rigueur de l'agglutination typhique. On constate les mêmes irrégularités déjà signalées pour certaines bactéries fournissant, comme les paratyphiques, des agglutinations de groupes (*loc. cit.*, p. 951). »

Dans le même mémoire, Widal et Abrami (p. 952) signalent également « la présence très nette d'une sensibilisatrice par la réaction de fixation en opérant avec un mélange de spores et de mycélium sporotrichosiques ».

Milhit[1] signale dans trois cas un pouvoir opsonique assez nettement supérieur à la normale et un indice supérieur à l'unité.

Ces divers résultats sont confirmés successivement par Sicard et Descomps[2], de Beurmann, Ramond, Gougerot et Vaucher[3], Brissaud, Gougerot et Gy[4], Widal et Joltrain[5], Josset-Moure[6].

— Le nombre considérable des travaux que je viens de passer en revue laisse complètement dans l'ombre toute une

1. Milhit. — *Opsonines et sporotrichose. — Bull. Soc. méd. hôp.*, (3) XXVI, 5.

2. Sicard et Descomps. — *Sporotrichose à type gommeux symétrique, sporo-agglutination positive. — Soc. méd. hôp.*, (3) 26 juin 1908.

3. De Beurmann, Ramond, Gougerot et Vaucher. — *Diagnostic rétrospectif de la sporotrichose par la sporo-agglutination. — Bull. Soc. méd. hôp.*, (3) XXVI, 75.

4. Brissaud, Gougerot et Gy. — *Diagnostic rétrospectif de la sporotrichose fait par la clinique, contrôlé par la sporo-agglutination et la fixation, affirmé par la culture du Sporotrichum Beurmanni resté saprophyte dans le buccopharynx. — Bull. Soc. méd. hôp.*, (3) XXVI, 613.

5. Widal et Joltrain. — *Sporotrichose chez deux membres d'une même famille, diagnostic immédiat chez l'un d'eux et rétrospectif chez l'autre par la sporo-agglutination et la réaction de fixation. — Bull. soc. med. hôp.*, (3) XXVI, 647.

6. Josset-Moure. — *Sporotrichose du tibia ayant simulé une ostéomyélite chronique et nécessité quatre interventions chirurgicales. — Diagnostic par la sporo agglutination et la réaction de fixation. Guérison. — Bull. Soc. méd. hôp.* (3) XXVI, 738.

partie de l'histoire des sporotricha; je veux parler des actions de fermentation exercées par ces organismes et des toxines tant solubles qu'endocellulaires qu'ils peuvent produire. Or la connaissance des actions fermentatives est fort importante au point de vue de la classification des espèces, d'autre part les résultats intéressants obtenus par L. Gautier[1] dans l'étude de quelques champignons parasites de l'homme au point de vue des diastases et toxines qu'ils sécrètent, ainsi que les travaux de Auclair sur le bacille de Koch nous ont engagés, Gougerot et moi, à compléter dans ce sens l'étude des sporotricha. Cette thèse comprend la première partie de ce programme : c'est le développement d'une note présentée en commun à la Société de Biologie au début de la présente année[2]. Je n'ai pu, malheureusement, donner à ce travail l'ampleur que j'aurais désiré tout d'abord, ce qui tient à des circonstances indépendantes de ma volonté :

1° Impossibilité de recueillir les gaz qui peuvent se dégager au cours de la fermentation et cela à cause des exigences du sporotrichum en oxygène. Le sporotrichum ne pousse pas en ballon capuchonné ou même simplement maintenu à une température constante. Il lui faut des variations de température pour renouveler l'air des ballons de culture. Dans ces conditions, recueillir quantitativement les gaz en renouvelant l'atmosphère des ballons, exige un appareil qu'on peut imaginer facilement mais qui est encombrant et en tout cas impossible à appliquer au grand nombre de ballons de culture que j'ai dû manipuler.

2° Comme on le verra par la suite, les sporotricha sont

1. L. Gautier. — *Recherches biologiques sur quelques champignons parasites de l'homme et des animaux (diastases et toxines)*, Paris 1907.

2. A. Blanchetière et Gougerot. — *Actions chimiques produites par le Sporotrichum Beurmanni. — Soc. de Biol.*, 30 janvier 1909.

des ferments lactiques faibles qui ne transforment en acide qu'une toute petite partie des hydrates de carbone qu'on leur fournit. Dans ces conditions, le dosage exact des produits de fermentation est précaire et l'établissement de l'équation illusoire.

J'ai donc dû me limiter à la recherche qualitative des produits de fermentations non gazeux. Même avec cette restriction, cela ne représente pas moins un travail fort long.

CHAPITRE II

Origine des variétés de sporotrichum étudiées. — Technique.

I. — ORIGINE

Les six variétés de sporotrichum que j'ai étudiées plus ou moins complètement proviennent de la collection de Gougerot. Leur origine pathologique est la suivante :

1° *Variété Schenk.* — Échantillon envoyé d'Amérique en 1906 à Gougerot par Hektoen.

Ce sporotrichum a, depuis, toujours conservé les mêmes caractères culturaux et microscopiques qui le distinguent du sporotrichum Beurmanni. Je n'insiste pas sur ces caractères qui ont été décrits par de Beurmann et Gougerot[1] dans leur mémoire de 1906.

2° *Variété* 1.α.*R.* — Premier échantillon de sporotrichum Beurmanni isolé par de Beurmann et Ramond[2] en 1903 et étudié par Matruchot et Ramond[3].

Cette variété a été signalée comme perdue par de Beurmann et Gougerot[4] en 1906. Il résulte d'une communication

1. De Beurmann et Gougerot. — *Les sporotrichoses hypodermiques.* — *Annales de Dermatologie et de syphiligraphie*, 1906, p. 100.
2. De Beurmann et Ramond. — *Abcès sous-cutanés multiples d'origine mycosique.* — *Ann. Dermat.*, 1905, p. 678.
3. Matruchot et Ramond. — *Soc. Biol.*, 4 nov. 1905.
4. De Beurmann et Gougerot. — *Loc. cit.*, 1906.

orale que cette variété a été retrouvée depuis par Gougerot dans les collections de M. Binot à l'Institut Pasteur.

5° *Variété* 2.β.*G.* — Sporotrichum Beurmanni retiré du cas numéro 2 de de Beurmann et Gougerot, signalé et étudié dans leur mémoire de 1906[1].

4° *Variété* 3.γ.*N.* — Sporotrichum retiré du cas numéro 3 de de Beurmann et Gougerot, également signalé et étudié dans leur mémoire de 1906[2].

5° *Variété Rossignol.* — Échantillon provenant du malade numéro 12 de de Beurmann et Gougerot et étudié par ces auteurs[3].

6° *Variété* 4.L.Δ. — Retirée du malade numéro 11 de de Beurmann et Gougerot[4].

En culture et morphologiquement cette variété de sporotrichum se distingue nettement des autres échantillons.

II. — MILIEU DE CULTURE

Grimbert[5], après avoir insisté dans sa thèse de doctorat en médecine sur l'importance de l'unification des milieux de culture pour l'étude des fonctions biochimiques des bactéries, propose deux milieux qui sont les suivants :

Le premier, purement minéral, comprend :

Hydrate de carbone.	30
Sulfate d'ammoniaque.	1
Phosphate d'ammoniaque	1
Eau distillée.	1000
Carbonate de chaux.	q.s.

1. De Beurmann et Gougerot. — *Loc. cit.*, 1906.
2. De Beurmann et Gougerot. — *Loc. cit.*, 1906.
3. De Beurmann et Gougerot. — *Douzième observation de sporotrichose due au sporotrichum Beurmanni. — Bull. Soc. méd. des hôp.* (3), XXIV, 597.
4. De Beurmann et Gougerot. — *Bull. Soc. méd. des hôp.* 1907.
5. Grimbert. — *Diagnostic des bactéries par leurs fonctions biochimiques. — Thèse médecine*, Paris, 1903.

Le second, dans lequel l'aliment azoté est de la peptone :

Hydrate de carbone	30
Peptone	10
Eau	1000
Carbonate de chaux.	q.s.

J'ai essayé comparativement ces deux milieux avec la même culture, l'expérience m'a démontré la supériorité du second sur le premier. Sur ce milieu sucre peptone la culture m'a paru se faire constamment d'une façon beaucoup plus rapide et avec une luxuriance beaucoup plus grande que sur le milieu purement minéral.

L'expérience m'a encore démontré que la suppression du carbonate de chaux était nécessaire pour avoir rapidement de belles cultures.

La seconde formule, sans carbonate de chaux, paraissait donc s'imposer, c'est elle que j'ai uniquement employée à moins d'indication contraire. Cette formule est d'ailleurs recommandée par Bodin [1] pour ce genre de recherches.

Pour favoriser le développement en voile du parasite, j'ai toujours eu soin de placer dans mes ballons de culture une rondelle de liège (tranche de bouchon de 1 mm. d'épaisseur) flottant à la surface du liquide nutritif. Sur ces rondelles de liège j'ai fait mes ensemencements. Le liège a pour effet de soutenir le voile de première formation qui se développe ainsi d'une façon remarquable. Lorsqu'il me paraissait assez développé, je faisais tomber ce voile au fond par une légère agitation ; un second se formait, et ainsi de suite.

Le milieu ne s'est jamais troublé.

C'est le premier voile qui est le plus délicat à obtenir, les suivants se forment avec une extrême facilité.

1. Bodin. — *Les champignons parasites de l'homme*, p. 47 (collection Léauté).

Les cultures qui ont servi à l'ensemencement sont uniquement des cultures sur pomme de terre glycérinée.

Ces cultures ont toutes été obtenues à froid, à la température du laboratoire.

III. — TECHNIQUE GÉNÉRALE DE L'ANALYSE.

La filtration permet de séparer rapidement le voile du liquide de culture. On peut achever à la trompe l'essorage du voile, le laver à l'eau distillée et le peser après dessiccation, si on a eu soin de le recueillir sur un filtre taré.

Le liquide d'essorage et les eaux de lavages sont réunies au filtratum principal, on prend le volume total de la liqueur ainsi obtenue et on mélange intimement.

On a noté au cours de la culture si on a observé un dégagement de gaz, on note à ce moment la réaction, l'odeur et la couleur du milieu.

J'ai toujours dosé l'acidité ou l'alcalinité du milieu de culture, comme je l'indiquerai au paragraphe suivant, pour avoir une idée de l'intensité du processus fermentatif.

Le liquide de culture peut contenir comme produits de fermentation :

A) *Des produits volatils* :

Alcools.
Acides volatils.
Aldéhydes.
Cétones.
Carbonate d'ammoniaque.

B) *Des produits fixes*, dans lesquels on ne recherche que les acides fixes et plus particulièrement les acides succinique et lactique.

Une simple distillation va séparer les uns des autres. En pratique, mon liquide filtré atteignait toujours plus de 400 c. c., j'en prenais 200 c. c. que je soumettais à la distillation, et je réservais le reste pour la détermination des acides volatils et les autres recherches spéciales s'il y avait lieu. Je poussais la distillation de ces 200 c. c. de façon à en recueillir les 2/3 environ et j'obtenais ainsi :

1° Un distillatum. — Rechercher sa réaction. Trois cas peuvent se présenter :

a) *Il est neutre.* — Donc pas d'acides volatils ni de carbonate d'ammoniaque, mais il peut contenir des produits aromatiques (dans le sens de : odorants), des aldéhydes, des cétones ou des alcools :

L'odeur renseigne sur le premier point.

La réaction de la fuchsine bisulfitée tranche le second.

L'action du réactif de Legal (nitroprussiate de soude et soude, puis acide acétique) ou le réactif de Denigès (sulfate mercurique) mettent en évidence les cétones s'il y en a.

Enfin la détermination simultanée de la tension superficielle du liquide au moyen du compte-gouttes de Duclaux[1] et de la densité de ce liquide par la méthode du flacon permet, non seulement de diagnostiquer la présence d'un alcool dans ce liquide, mais encore d'en préciser le nom et la quantité. Au moyen d'un artifice indiqué par Duclaux, on peut même étendre cette méthode au cas de deux alcools.

b) *Il est acide.* — C'est qu'il existe un ou plusieurs acides volatils. On le neutralise alors par un léger excès de carbonate de chaux qui fixe les acides à l'état de sels de chaux et on redistille en recueillant encore les 2/3 du volume.

1. Voir Duclaux. — *Traité de microbiologie générale*, t. IV, pp. 24 à 35.

Ce nouveau distillatum débarrassé des acides volatils rentre dans le cas précédent et on y peut déterminer la présence d'alcools, d'aldéhydes, etc.

Quant à la détermination du ou des acides volatils, elle se fait qualitativement et quantitativement par la méthode des distillations fractionnées de Duclaux[1] sur 110 c. c. du liquide primitif, pris sur les 200 c. c. gardés en réserve.

c) *Il est alcalin.* — C'est que le liquide primitif était lui-même alcalin et qu'il est passé à la distillation du carbonate d'ammoniaque d'ailleurs facile à mettre en évidence au moyen du réactif de Nessler.

Pour rechercher les autres produits, on acidule par un léger excès d'acide oxalique et on redistille en recueillant les 2/3 de la liqueur. Sur ce nouveau distillatum on recherche le ou les alcools par la méthode de Duclaux.

2° Un résidu. — Ce résidu contient les acides fixes; on peut le réunir au liquide de réserve dont on chasse les acides volatils par ébullition. On concentre le tout à faible volume, on additionne d'acide chlorhydrique en quantité proportionnelle à l'acidité dosée au début et on épuise trois ou quatre fois à l'éther dans une boule à décantation. Les liquides éthérés sont réunis, distillés et le résidu évaporé à sec au bain-marie. Dans le cas le plus général où les deux acides succinique et lactique se rencontrent ensemble, on obtient un résidu sirupeux contenant une plus ou moins grande quantité de cristaux. On reprend rapidement le tout par le moins possible d'éther et on filtre rapidement à la trompe, on lave une ou deux fois sur le filtre les cristaux avec une petite

1. Duclaux. — *Traité de microbiologie générale*, t. III, pp. 384 et suiv.

quantité d'éther en essorant chaque fois et rapidement à la trompe. Ces cristaux sont de l'acide succinique qu'on peut caractériser par ses réactions spéciales.

La solution éthérée contient encore de l'acide succinique et surtout de l'acide lactique. On distille l'éther, on évapore le résidu et on obtient à la suite de ces évaporations non plus l'acide lactique lui-même mais la lactone qui ne donne point les réactions des acides alcools. On reprendra donc par l'eau, on fera bouillir un certain temps, en ayant soin de remplacer l'eau qui s'évapore, on retransforme ainsi la lactone en acide lactique qu'on peut alors caractériser.

La séparation des deux acides succinique et lactique pourrait encore s'effectuer de la façon suivante : saturer exactement à chaud par de l'eau de baryte le mélange des deux acides jusqu'à neutralité à la phénolphtaléine. Tout l'acide succinique se précipite à l'état de succinate de baryum anhydre, le lactate de baryum reste en solution. On sépare par filtration à chaud (Guerbet)[1].

IV. — TECHNIQUE SPÉCIALE

Je tiens à préciser sous cette rubrique quelques détails relatifs aux conditions spéciales dans lesquelles j'ai opéré :

Suivant les conditions de l'expérience les liquides de culture ont été acides ou alcalins, et dans le premier cas l'acidité était due soit seulement à de l'acide lactique, soit à un mélange d'acide lactique et d'acide acétique.

Réaction. — Je l'ai toujours recherchée d'abord au papier de tournesol. Lorsque le liquide était acide, je titrais cette

1. Guerbet. — Cité par Barral *in Précis d'analyse chimique biologique générale*, p. 283.

acidité sur 20 centimètres cubes, en face d'une goutte de teinture de phénolphtaléine comme indicateur, au moyen d'une solution de soude $\frac{N}{10}$; c'est le nombre de centimètres cubes de soude ainsi employés que l'on trouvera dans les protocoles d'expériences sous la rubrique :

$$\text{Acidité sur } 20\text{cc.} = N\text{cc de NaOH } \tfrac{N}{10}$$

Lorsque le liquide était alcalin, je titrais l'alcalinité par méthode indirecte pour opérer toujours en face du même indicateur : à 20 centimètres cubes du liquide, j'ajoutais une quantité connue de SO^4H^2 $\frac{N}{10}$ supérieure à celle qui était strictement nécessaire pour saturer l'alcali de la culture, puis je titrais l'excès de SO^4H^2 au moyen de la soude $\frac{N}{10}$ en face de la phénolphtaléine, par différence j'obtenais l'alcalinité.

Épreuve du compte-gouttes. — Les indications expérimentales sont ramenées à 15 au moyen de la table donnée par Duclaux[1].

Détermination des acides volatils. — L'acide acétique ne s'étant jamais produit que dans des bouillons maintenus neutres par le carbonate de chaux, il était nécessaire, pour mettre les acides volatils en liberté, de précipiter la chaux par de l'acide oxalique. Il est indispensable pour cela de faire un dosage préalable de la chaux en dissolution et de n'ajouter que la quantité d'acide oxalique strictement nécessaire pour précipiter la chaux; sans cela, lorsqu'on arrive à la fin de la distillation par la méthode fractionnée de Duclaux, l'excès

1. Duclaux. — *Traité de microbiologie générale*, t. III, p. 5.

d'acide oxalique réagit sur la substance sucrée avec formation d'acide formique qui fausse les résultats. Voici d'ailleurs les résultats d'une expérience directe à ce sujet :

Soumis à la distillation fractionnée par la méthode de Duclaux le mélange suivant :

Eau.	110 cc.
Glycérine.	4,203
(quantité de même ordre que celle des milieux)	
Acide oxalique crist.	1,000

N^os des prises d'essai de 10 cc.	Acidité en gouttes de NaOH $\frac{N}{10}$
1	0
2	0
3	0
.	.
.	.
.	.
7	2
8	2
9	3
10	4

Si l'on veut bien comparer ces résultats aux graphiques d'expériences qu'on verra plus loin, on se rendra compte de la perturbation que l'élément acide oxalique en excès aurait apporté à ces graphiques puisque les courbes de mes résultats sont déjà un peu faibles en général. C'est cette considération qui m'a amené à vouloir contrôler les résultats de la distillation fractionnée par caractérisation directe des acides volatils dans le distillatum. J'y suis parvenu en caractérisant l'acide acétique par la production du cacodyle et l'acide formique par son action réductrice sur les sels d'argent. Je n'ai jamais eu que des traces de réduction, tandis que la réaction du cacodyle a toujours été intense.

Détermination des acides fixes. — Le résidu d'extraction par l'éther (voir plus haut) n'a jamais présenté trace de cristaux : il y a donc absence d'acide succinique, du moins en quantité appréciable.

D'autre part, le résidu dissous dans l'eau est acide au tournesol ; il colore en jaune le réactif de Berg et décolore celui d'Uffelmann : c'est donc un acide alcool. Pour trancher entre les deux acides alcools généralement rencontrés dans les fermentations : acides glycolique et lactique, on se sert de la réaction de Denigès : en milieu acide ou neutre ces deux acides chauffés en présence de peroxyde de plomb donnent une aldéhyde :

$$\underset{\text{Ac. Lactique}}{CH^3 - CHOH - CO^2H} + O = H^2O + CO^2 + \underset{\text{Éthanal}}{CH^3 - COH}$$

$$\underset{\text{Ac. Glycolique}}{CH^2OH - CO^2H} + O = H^2O + CO^2 + \underset{\text{Méthanal}}{H - COH}$$

Ces deux aldéhydes réduisent le réactif de Nessler, le nitrate d'argent ammoniacal à chaud, mais se différencient en ce que la première donne la réaction de Legal et la seconde ne la donne pas, d'autre part le méthanal réduit le sulfate mercurique à l'état de sulfate mercureux insoluble.

CHAPITRE III

Fermentation des alcools polyatomiques.

J'ai étudié la fermentation de trois alcools : glycérine, mannite, dulcite. Les deux premiers ont été étudiés avec les six variétés, le troisième avec trois variétés seulement : Schenk, 2.β.g et 4.L.Δ. Je rappellerai à ce propos que Schenk et 4.L.Δ se différencient plus ou moins à différents points de vue du groupe des trois autres échantillons qui, au contraire, sont très semblables. C'est pourquoi j'ai choisi ces trois échantillons morphologiquement dissemblables pour faire fermenter un sucre lorsque des considérations financières m'ont interdit d'étudier sa fermentation avec les six échantillons.

Quoi qu'il en soit, la glycérine seule s'est montrée fermentescible et cela avec les six échantillons étudiés. Dans les produits de fermentation je n'ai trouvé ni alcools, ni acides volatils, mais seulement un acide fixe qui est l'acide lactique. Les faibles quantités d'acide formé dans chaque cas ne m'ont pas permis de déterminer à quelle variété d'acide lactique j'avais affaire dans chaque cas.

Comme je l'ai dit plus haut, la mannite et la dulcite ne fermentent avec aucun échantillon, on n'observe à aucun moment de dégagement de gaz, ce qui écarte l'hypothèse que la décomposition du sucre se fait avec production de H^2O et CO^2 ; d'autre part, on ne constate la formation ni d'alcools, ni

d'acides volatils, ni d'acides fixes; les liquides de culture restent toujours fortement alcalins.

Voici, d'ailleurs, les protocoles d'expériences :

1° — Glycérine.

Expérience I. — Variété Schenk.

Durée de la culture : 44 jours.

Culture très abondante, formée d'une série de voiles superposés, dont le dernier formé surnage le liquide. Ce voile est uni, recouvre complètement la surface du liquide; sa couleur est blanc ivoire, il ne se dissocie nullement quand on agite le ballon.

Le liquide n'est pas trouble, il filtre absolument limpide, sa couleur est jaune clair, il présente une odeur aromatique, agréable et très marquée.

Volume du liquide recueilli : 450 cc.

Réaction nettement acide au papier de tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 1 cc. 1 de $NaOH\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 230.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acide volatil.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 100 gouttes à 16°, correction négligeable.

Donc pas d'alcool.

Résidu. — Nettement acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne les réactions suivantes :

Reaction de Berg. . : Positive.

Réaction d'Uffelmann : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience II. — Variété 1.α.R.

Durée de la culture : 163 jours.

Culture abondante, formant une série de voiles superposés, dont le dernier surnage le liquide et le recouvre complètement. Il est uni, sa couleur est blanc opalin, il ne se dissocie pas par agitation du ballon.

Le liquide de culture filtre très limpide, son odeur est très aromatique et semblable à celle du précédent, bien qu'un peu moins marquée.

Volume de liquide recueilli : 410 cc.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 1 cc. 9 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 363.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acide volatil.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 101 gouttes à 19°.

Correction : 100,5 à 15°.

Donc pas d'alcool.

Résidu. — Nettement acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne les réactions suivantes :

Réaction de Berg. . : Positive.

Réaction d'Uffelmann : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Production d'iodoforme avec I + KOH.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience III. — Variété 2.β.*g*.

Durée de la culture : 112 jours.

Culture abondante, formant comme les précédentes une série de voiles superposés dont le dernier, uni, de couleur blanc légèrement rosé, recouvre complètement le liquide. Par agitation ce voile se dissocie facilement.

Le liquide de culture filtre limpide, peu coloré; son odeur, semblable à celle des précédents, est très marquée.

Volume de liquide recueilli : 430 cc.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 2 cc. 3 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 460.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acide volatil.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 100 gouttes à 15°.

Donc pas d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne les réactions suivantes :

Réaction de Berg. . : Positive.

Réaction d'Uffelmann : Positive.

Production d'iodoforme avec I + KOH.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Donc présence d'un acide fixe, qui est l'acide lactique.

Expérience IV. — Variété 3.γ.N.

Durée de la culture : 342 jours.

Culture beaucoup moins abondante que les précédentes, donnant un voile uni, d'aspect glaireux, blanc, peu dissociable par agitation du ballon.

Le liquide de culture filtre limpide, peu coloré; son odeur est aromatique.

Volume de liquide recueilli : 400 cc.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 0 cc. 7 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr.130.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acide volatil.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 101 gouttes à 18°.

Correction : 100 gouttes à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne les réactions suivantes :

Réaction de Berg : Positive.

Formation d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Donc présence d'un acide fixe, qui est l'acide lactique.

Expérience V. — Variété Rossignol.

Durée de la culture : 345 jours.

Culture analogue comme aspect, mais beaucoup moins abondante que celle de Schenk, peu dissociable par agitation du ballon.

Liquide de culture limpide après filtration, peu coloré, aromatique.

Volume du liquide recueilli : 420 cc.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 0 cc. 4 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0ᵍ,078.

Distillatum. — Réaction neutre au tournesol : donc pas d'acide volatil.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Positive mais très faible.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 101 gouttes à 18°.

Correction : 100 gouttes à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne la réaction de Berg. Donc il y a un acide fixe qui est un acide alcool; par analogie, on peut dire acide lactique.

Expérience VI. — Variété 4.L.Δ.

Durée de la culture : 79 jours.

Culture assez maigre, noire, ne formant pas un voile continu, mais une série de colonies flottantes parfaitement rondes, présentant au centre un point très coloré en noir, autour duquel on trouve une zone un peu plus claire semblant saupoudrée d'une poussière grisâtre, et enfin une zone périphérique également très colorée. Quelquefois, sur la même colonie on trouve une série de ces anneaux alternativement clairs et colorés. La dimension de ces colonies varie de la grosseur d'une tête d'épingle au diamètre d'une pièce de deux francs. Parfois plusieurs de ces colonies se soudent, formant un placard plus ou moins large à contour polycyclique. Sur les parois du ballon il se forme aussi une culture, dans l'intérieur du liquide, sous forme d'une mince membrane incolore piquetée de petites colonies noirâtres.

Le liquide de culture n'est pas troublé, mais présente une consistance spéciale un peu analogue à celle des liquides qui ont graissé; ce liquide est plus coloré que les précédents, son odeur est peu ou pas aromatique.

Volume de liquide recueilli : 450 cc.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 0 cc. 7 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 147.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 99,5 gouttes à 15°
Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Nettement acide au tournesol.
Son extrait éthéré donne les réactions suivantes
Réaction de Berg : Positive.
Formation d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.
Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

2° Mannite.

Expérience VII. — Variété Schenk.
Durée de la culture : 68 jours.

Culture assez abondante, formant un voile de coloration blanc grisâtre, uni, très homogène, ne se dissociant pas par agitation.

Le liquide de culture filtre limpide, il est peu coloré et présente une odeur urineuse et de moisi.

Volume de liquide recueilli, 425 cc.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 1 cc.1 de Na OH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = gr.040.

Distillatum. — Alcalin au tournesol.
Réactif de Nessler, y provoque un volumineux précipité : donc présence de carbonate d'ammoniaque.
Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.
Réaction de Legal . . . . . : Négative.
Redistillé sur un léger excès d'acide oxalique, donne à l'épreuve du compte-gouttes de Duclaux 100,5 gouttes à 17°, correction 100 gouttes à 15°.
Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Légèrement alcalin au tournesol.
Distillé sur acide oxalique, donne un distillatum neutre : donc pas d'acide volatil.
Extrait éthéré presque nul, ne donne ni cristaux, ni les réactions des acides alcools. Donc absence d'acide fixe.

Expérience VIII. — Variété 2.β.*g*.
Durée de la culture : 359 jours.

Culture pas très abondante formée d'un voile blanc, uni, de consistance glaireuse, pas dissocié par agitation.

Le liquide filtré limpide, il est peu coloré et d'odeur urineuse.

Réaction faiblement alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 0 cc. 8 de Na OH $\frac{N}{10}$.

Distillatum. — Réaction alcaline au tournesol.

Réactif de Nessler, y provoque un abondant précipité.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Redistillé sur un léger excès d'acide oxalique, donne à l'épreuve du compte-gouttes de Duclaux : 101 gouttes à 19°, corrigé 100 gouttes à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Alcalin au tournesol.

Distillé sur acide oxalique, donne un distillatum neutre, donc pas de fermentation d'acide volatil.

L'extrait éthéré du résidu ne donne ni cristaux, ni la réaction des acides alcools ; il ne contient donc ni acide succinique, ni acide lactique.

Expérience IX. — Variété 3.γ.N.

Durée de la culture : 372 jours.

Culture très faible ayant commencé pigmentée en noir, s'est continuée surtout sous forme de flocons blancs nageant au sein du liquide sans le troubler.

Liquide filtre limpide, coloration claire, odeur urineuse.

Volume du liquide recueilli : 470 cc.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 4 cc. 4 de Na OH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 176.

Distillatum. — Fortement alcalin au tournesol.

Réactif de Nessler, y provoque un abondant précipité, donc présence d'Az H^3.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Redistillé sur acide oxalique en excès, donne au compte-

gouttes de Duclaux, 99,5 gouttes à 13°, soit 100 gouttes à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Nettement alcalin.

Distillé sur un excès d'acide oxalique donne un distillatum neutre, donc pas de formation d'acide volatil.

L'extrait éthéré du résidu ne fournit ni cristaux ni réaction des acides alcools, donc pas d'acide succinique ni d'acide lactique.

Expérience X. — Variété 1-α-R.

Durée de la culture : 289 jours.

Culture en voile, assez abondante. Le voile est uni, mi-partie blanc et noir, lisse, ne se dissociant pas par agitation.

Le liquide de culture filtre limpide, clair, présente une odeur urineuse et de moisi.

Volume de liquide recueilli : 440 cc.

Réaction faiblement alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 0 cc.6 de Na OH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr.022.

Distillatum. — Alcalin au tournesol.

Réactif de Nessler, y provoque un précipité, donc présence d'ammoniaque.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Redistillé sur acide oxalique en excès donne, au compte-gouttes de Duclaux, 100 gouttes à 17°, corrigé : 99,5 gouttes à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Neutre.

Distillé sur un excès d'acide oxalique, donne un distillatum neutre, donc pas d'acides volatils.

Extrait éthéré du résidu, ne fournit ni cristaux ni réaction des acides alcools, donc pas d'acide succinique ni d'acide lactique.

Expérience XI. — Variété Rossignol.

Durée de la culture : 389 jours,

Culture très maigre, voile presque nul, s'est faite presque exclusive-

ment sur les parois du ballon dans l'intérieur du liquide sous forme d'un enduit incolore piqueté de fines colonies noirâtres.

Le liquide semble avoir subi une véritable fermentation visqueuse; il est très difficile à filtrer, présente l'odeur des urines de fébricitants.

Volume de liquide recueilli : 430 cc.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 4 cc. 2 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 166.

Distillatum. — Fortement alcalin au tournesol.

Précipite abondamment le réactif de Nessler, contient donc AzH^3.

Réaction de la fuchsine bisulfatée : positive mais très faible.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Redistillé sur acide oxalique en excès donne au compte-gouttes de Duclaux 100 gouttes à 15°.

Donc pas de production d'alcool.

Résidu. — Presque neutre.

Distillé sur un excès d'acide oxalique, donne un distillatum neutre; donc pas de formation d'acides volatils.

Extrait éthéré du résidu ne fournit ni cristaux, ni réaction des acides alcools. Donc ni acide succinique ni acide lactique.

Expérience XII. — Variété 4.L.Δ.

Durée de la culture : 140 jours.

Culture moyenne présentant exactement les mêmes caractères que celle de l'expérience VI.

Liquide filtré légèrement louche; sa coloration est foncée, son odeur urineuse.

Volume recueilli : 425 cc.

Réaction alcaline du tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 1 cc. NaOH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 036.

Distillatum. — Fortement alcalin.

Volumineux précipité avec le Nessler, donc contient AzH^3.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Positive, mais faible.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Redistillé sur acide oxalique en excès, donne, au compte-gouttes de Duclaux, 99,5 gouttes à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Neutre.

Distillé sur un excès d'acide oxalique, donne un distillatum neutre, donc pas de formation d'acide volatil.

Extrait éthéré du résidu ne fournit ni cristaux, ni réaction des acides alcools : donc ni acide succinique ni acide lactique.

5° Dulcite.

Expérience XIII. — Variété Schenk.

Durée de la culture : 66 jours.

Culture abondante formant un voile uni, grisâtre, très homogène, ne se dissociant pas par agitation du ballon.

Liquide filtrant limpide, clair, odeur urineuse.

Volume recueilli 650 cc.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 0 cc. 9 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 050.

Distillatum. — Alcalin au tournesol.

Précipite abondamment le Nessler : contient donc de l'ammoniaque.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Positive, mais très faible.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Redistillé sur un excès d'acide oxalique, donne, au compte-gouttes de Duclaux, 101,5 gouttes à 21°; corrigé : 100 gouttes à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Sensiblement neutre.

Distillé sur un excès d'acide oxalique, donne un distillatum neutre : donc pas de formation d'acide volatil.

Extrait éthéré du résidu ne fournit ni cristaux, ni réaction des acides alcools : donc ni acide succinique, ni acide lactique.

Expérience XIV. — Variété 2.β.g.

Durée de la culture : 79 jours.

Culture peu abondante, sans trace de voile, grummeleuse, tombant au fond au·fur et à mesure de sa formation.

Liquide filtrant limpide, assez fortement coloré, odeur nulle.

Volume recueilli : 470 cc.

Réaction franchement alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 0 cc. 5 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 020.

Distillatum. — Nettement alcalin.

Précipite le réactif de Nessler, donc contient de l'ammoniaque.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Redistillé sur acide oxalique, donne au compte-gouttes de Duclaux : 100,5 gouttes à 19°.

Soit : 99,5 gouttes à 15°.

Il n'y a donc point formation d'alcool.

Résidu. — Presque neutre.

Distillé sur acide oxalique, fournit un distillatum neutre au tournesol. Donc pas d'acide volatil.

Extrait éthéré du résidu ne fournit ni cristaux, ni réaction des acides alcools. Donc absence d'acides succinique et lactique.

Expérience XV. — Variété 4. L. Δ.

Durée de la culture : 75 jours.

Culture assez maigre présentant tous les caractères de l'expérience 6.

Liquide filtre trouble, fortement coloré, présente une forte odeur urineuse et de moisi.

Volume recueilli : 460 cc.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 1 cc. 1 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 045.

Distillatum. — Alcalin.

Précipite le réactif de Nessler, contient donc de l'ammoniaque.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Nessler. . . . . : Négative.

Redistillé sur acide oxalique, donne au compte-gouttes de Duclaux : 101 gouttes à 20°.

Soit : 100 gouttes à 15°.

Résidu. — Neutre.

Distillé sur acide oxalique, fournit un distillatum neutre au tournesol. Donc pas de formation d'acide volatil.

Extrait éthéré du résidu ne fournit ni cristaux, ni réaction des acides alcools. Donc ni acide succinique ni acide lactique.

CHAPITRE IV

Fermentation des hexoses.

J'ai étudié la fermentation de trois de ces corps, dont deux directement, le glucose et le galactose, et un indirectement, le lévulose.

Le glucose fermente sous l'influence des six variétés de sporotrichum étudiées, ce qu'on pouvait prévoir *a priori*, puisque c'est un des éléments dont la nécessité fut reconnue dès le début des recherches.

Le galactose fournit un élément d'appréciation important.

J'ai étudié, en effet, sa fermentation sous l'influence des trois variétés : Schenk, 2.β.g, 4.L.Δ ; or, les deux premières font fermenter le galactose, qui n'est pas attaqué par la troisième. Je dois ajouter qu'une étude sur milieu galactosé tournesolé m'a montré également que les trois variétés : 1.α.R, 3.γ.N et Rossignol, dont je n'ai pas étudié la fermentation d'une façon détaillée, font cependant fermenter ce sucre avec production d'un acide. 4.L.Δ se distingue donc nettement des autres variétés quant à son action sur le galactose.

J'ai dit que j'avais étudié indirectement la fermentation du lévulose. En effet, j'étudierai plus loin la fermentation de l'inuline sous l'influence des trois variétés : Schenk, 2.β.g et 4.L.Δ et je montrerai que les deux premières variétés intervertissent d'abord ce corps, avec formation de lévulose par conséquent, et le font ensuite fermenter à l'état d'acide lactique. 4.L.Δ au contraire ne touche pas à l'inuline. Des

essais sur milieu lévulosé tournesolé m'ont démontré que les trois variétés : 1.α.R, 3.γ.N et Rossignol font également fermenter le lévulose avec production d'acide. Des essais analogues faits avec 4.L.Δ m'ont démontré que cette variété produisait une acidification très faible sinon nulle. Donc, sur lévulose, 4.L.Δ se distingue encore d'une façon toute spéciale.

Voici le protocole de mes expériences concernant le glucose et le galactose. Je renvoie à la fermentation de l'inuline pour tout ce qui concerne le lévulose.

1° Glucose.

Expérience XVI. — Variété Schenk.

Durée de la culture : 64 jours.

Culture abondante formée d'un voile uni d'un beau blanc crème, ne se dissociant pas par agitation, et de gros flocons qui tombent au fond du vase.

Liquide filtre limpide, peu coloré, d'odeur très aromatique.

Volume recueilli : 450 cc.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 1 cc. 4 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 295.

Distillatum. — Neutre au tournesol. Donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 100 gouttes à 14° (correction nulle). Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne les réactions suivantes :

Réaction de Berg. . . . . : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XVII. — Variété 1. α. R.

Durée de la culture : 417 jours.

Culture abondante présentant tous les caractères de celle de l'expérience II.

Liquide de culture filtre limpide, clair, et présente une odeur fortement aromatique.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 1 cc. 7 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 309.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes donne : 100,5 gouttes à 17°.

Soit : 100 gouttes à 15°.

Donc pas de production d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne les réactions suivantes :

Réaction de Berg. . . . . : Positive.

Réaction d'Uffelmann. . . . : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XVIII. — Variété. 2. β. g.

Durée de la culture : 479 jours.

Culture présentant les mêmes caractères que celle de l'expérience III.

Liquide de culture limpide, clair, très aromatique.

Volume recueilli : 410 cc.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 2 cc. 4 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 458.

Distillatum. — Réaction neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes donne : 101 gouttes à 19°.

Soit : 100 gouttes à 15°.

Il n'y a donc point formation d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne :

Réaction de Berg. . . . . : Positive.

Réaction d'Uffelmann. . . . : Positive.

Formation d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Formation d'iodoforme par I + KOH.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XIX. — Variété : 3.γ.N.

Durée de la culture : 361 jours.

Culture abondante ayant fourni un beau voile blanc grisâtre, uni, non dissociable par agitation du liquide. Il y a aussi quelques flocons blancs nageant au sein de ce liquide.

Liquide de culture limpide, clair, beaucoup moins aromatique que les deux précédents.

Volume recueilli : 400 cc.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 2 cc., 1 de $NaOH \frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr., 391.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes donne : 99 gouttes à 12°,

soit : 100 gouttes à 15°.

Donc pas d'alcool formé.

Résidu. — Acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne les réactions suivantes :

Réaction de Berg. . : Positive.

Réaction d'Uffelmann : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XX. — Variété Rossignol.

Durée de la culture : 183 jours.

Culture beaucoup moins abondante que les précédentes formée d'un voile blanc jaunâtre et de flocons nageant au sein du liquide.

Liquide de culture limpide, clair, peu aromatique.

Volume recueilli : 460 cc.
Réaction acide au tournesol.
Acidité sur 20 cc. = 1 cc., 1 de Na OH $\frac{N}{10}$.
Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr., 235.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.
Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.
Réaction de Legal. . . . . : Négative.
Épreuve du compte-gouttes : 100 gouttes à 16°, correction inutile.
Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.
Son extrait éthéré donne les réactions suivantes :
Réaction de Berg : Positive.
Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.
Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XXI. — Variété : 4.L.A.
Durée de la culture : 480 jours.

Culture extrêmement abondante, ayant presque exclusivement poussé en voile. Ce voile est profondément plissé et présente en quelque sorte un relief montagneux. Il est de couleur noir jais dans les endroits où il ne paraît pas saupoudré d'une fine poussière grisâtre. Au-dessous de cette poussière on retrouve d'ailleurs la coloration noire.

Le liquide de culture est limpide, mais sa coloration est beaucoup plus foncée que celle des variétés précédentes. Odeur infiniment moins aromatique également.

Volume recueilli : 400 cc.
Réaction acide au tournesol.
Acidité sur 20 cc. = 1 cc., 9 de Na OH $\frac{N}{10}$.
Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 354.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.
Réaction de la fuchsine bisulfitée : Positive, mais très faible.
Réaction de Legal. . . . . : Négative.
Épreuve du compte-gouttes : 100,5 gouttes à 16°,
soit : 100 gouttes à 15°.
Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Nettement acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne les réactions suivantes :

Réaction de Berg : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

2° Galactose.

Expérience XXII. — Variété Schenk.

Durée de la culture : 63 jours.

Culture extrêmement abondante présentant par ailleurs tous les autres caractères de celle de l'expérience I.

Liquide limpide, clair, aromatique.

Volume recueilli 575 cc.

Réaction nettement acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 2 cc. de Na OH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 546.

Distillatum. — Neutre au tournesol ; donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes 99,5 gouttes à 15°.

Donc pas d'alcool formé.

Résidu. — Fortement acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne :

Réaction de Berg. . : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Production d'iodoforme avec I + KOH.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XXIII. — Variété 2.β.g.

Durée de la culture : 56 jours.

Culture très abondante, uniquement en un voile qui présente les caractères de celui de l'expérience II.

Liquide de culture limpide, clair, d'odeur très aromatique.

Volume recueilli 460 cc.

Réaction, acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 1cc. 2 de Na OH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 257.

Distillatum. — Réaction neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée positive mais très faible.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 100 gouttes à 17°.

Soit : 99,5 à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne :

Réaction de Berg . . : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Production d'iodoforme avec I + KOH.

Donc production d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XXIV. — Variété 4.L.A.

Durée de la culture : 75 jours.

Culture assez maigre, noire, formant quelques colonies surnageant le liquide, des flocons nageant au sein de ce dernier et un enduit sur les parois du ballon, le tout présentant les caractères déjà vus pour ces différents éléments dans l'expérience VI.

Liquide légèrement louche après filtration, de couleur foncée, presque jus de tabac, d'odeur urineuse et de moisi.

Volume recueilli 460 cc.

Alcalinité sur 20 cc. = 0 cc. 2 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 078.

Distillatum. — Nettement alcalin au tournesol.

Précipite abondamment le réactif de Nessler : renferme donc AzH^3.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Après redistillation sur acide oxalique en excès, le compte-gouttes de Duclaux donne :

100 gouttes à 17°

Soit 99,5 gouttes à 15°.

Donc pas d'alcool.

Résidu. — Presque neutre.

Distillé sur excès d'acide oxalique donne un distillatum neutre au tournesol ; donc pas d'acides volatils.

Extrait éthéré du résidu ne donne ni cristaux, ni réaction des acides alcools ; donc ni acide succinique ni acide lactique.

CHAPITRE V

Fermentation des bioses.

J'ai étudié la fermentation de trois de ces sucres :

Saccharose ;
Maltose ;
Lactose.

Or, la caractéristique de ces sucres est de se dédoubler facilement sous l'influence des agents hydratants (acides étendus ou diastases) en sucres de la série précédente qui sont : pour le saccharose, le glucose et le lévulose ; pour le maltose, le glucose ; pour le lactose, le glucose et le galactose. Il faut donc s'assurer de deux choses :

1° Si ces bioses fermentent ;

2° Dans l'affirmative, s'ils fermentent pour leur propre compte, ou s'ils subissent un dédoublement préalable.

Ne disposant pas d'une façon suivie d'un polarimètre, j'ai dû me préoccuper d'une méthode chimique suffisamment sensible pour me permettre de voir s'il y avait hydrolyse des bioses. J'ai trouvé cette réaction dans l'emploi du réactif de Barfœd (acétate de cuivre additionné d'un peu d'acide acétique), qui est réduit immédiatement par les hexoses à l'ébullition avec production d'oxydule rouge, tandis qu'il n'est pas réduit par une ébullition de *courte durée* avec les bioses.

Pratiquement, j'ai résolu la première question, la question

de fermentation, par des cultures pratiquées sur des milieux analogues aux précédents :

Sucre	15 gr.
Peptone	5 gr.
Eau q. s. pour	500 cc.

et dont l'analyse après fermentation a été faite par les mêmes méthodes.

La seconde question, la question d'interversion, a été résolue par une série de cultures sur milieu seulement sucré :

Sucre	3 gr.
Eau.	100 gr.

Sur ce milieu on n'obtient que des cultures extrêmement faibles, mais suffisantes cependant pour produire une hydrolyse notable quand il y a lieu.

J'ai toujours eu soin de faire pour chaque sucre un ballon témoin qui a été stérilisé en même temps que les ballons destinés à l'ensemencement, conservé pendant le même temps qu'eux dans les mêmes conditions. Ce ballon m'a servi de terme de comparaison pour voir l'influence de la stérilisation dans l'hydrolyse trouvée. Je dois dire que ces ballons témoins, avec les trois bioses étudiés, ne m'ont pas donné de traces sensibles de réduction pendant la première demi-minute d'ébullition, et n'ont donné qu'un faible précipité jaunâtre et non pas rouge pendant la seconde demi-minute, tandis que les ballons dans lesquels l'hydrolyse avait eu lieu donnaient immédiatement à l'ébullition un précipité franchement rouge d'oxydule.

La formule du réactif employé a été la suivante :

Solution saturée d'acétate cuivrique. .	500 cc.
Acide acétique à 10/100	5 cc.

1° Saccharose.

L'action sur le saccharose est différente suivant les variétés. La variété Schenk est la seule qui n'attaque pas le saccharose, les autres variétés le font fermenter, au contraire, après hydrolyse préalable, comme le montrent les expériences suivantes :

Expérience XXV. — Variété Schenk.

Durée de la culture : 63 jours.

Culture abondante formée d'un voile uni, grisâtre, homogène, ne se dissociant pas par agitation, et de quelques flocons blanchâtres flottants au sein du liquide.

Liquide filtre limpide, clair, son odeur est urineuse.

Volume recueilli : 425 cc.

Réaction nettement alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 2 cc. 3 NaOH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 083.

Distillatum. — Nettement alcalin au tournesol.

Précipite le réactif de Nessler : donc contient de l'ammoniaque,

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Redistillé sur acide oxalique en excès, donne, au compte-gouttes de Duclaux, 101 gouttes à 17°, soit : 100 gouttes à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Alcalin au tournesol.

Redistillé sur acide oxalique en excès, donne un distillatum neutre : donc pas de formation d'acides volatils.

Extrait éthéré du résidu, ne donnne ni cristaux, ni réaction des acides alcools : donc ni acide succinique ni acide lactique.

Expérience XXVI. — Variété 1.α.R.

Durée de la culture : 306 jours.

Culture très abondante en voile blanc opalin, uni, moins compact que la variété Schenk.

Se dissociant un peu par agitation.

Le liquide filtre limpide, clair, son odeur est aromatique.

Volume recueilli : 420 cc.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 1 cc. 8 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 352.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 102 gouttes à 22°, soit : 100 gouttes à 15°.

Résidu. — Acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne :

Réaction de Berg . . . : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Production d'iodoforme par I + KOH.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XXVII. — Variété 2.β.g.

Durée de la culture ; 363 jours.

Culture abondante formée d'un voile uni, ayant commencé à pousser pigmentée en noir et ayant continué à pousser blanc (la source de la semence était une culture sur pomme de terre glycérinée pigmentée en noir) ; ne se dissocie pas par agitation.

Le liquide de culture est limpide, clair, très aromatique.

Volume recueilli : 400 cc.

Acidité sur 20 cc = 1 cc. 4 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 261.

Distillatum. — Réaction neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 101 gouttes à 17°, soit 100,5 gouttes à 15°.

Donc pas d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne :

Réaction de Berg : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XXVIII. — Variété 3.γ.N.

Durée de la culture : 368 jours.

Culture assez abondante formée d'un voile uni, blanc grisâtre, non dissociable par agitation et de quelques flocons nageant dans le liquide.

Liquide limpide, clair, d'odeur aromatique.

Volume recueilli 450 cc.

Acidité sur 20 cc. = 2 cc. NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 419.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée positive mais très faible.

Réaction de Legal : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 100,5 gouttes à 18°.

Soit : 100 gouttes à 15°.

Donc pas de production d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne :

Réaction de Berg : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Production d'iodoforme avec I + KOH.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XXIX. — Variété Rossignol.

Durée de la culture : 370 jours.

Culture abondante présentant les mêmes caractères que la précédente (Exp. XXVIII).

Liquide limpide, clair, d'odeur peu aromatique.

Volume recueilli 450 cc.

Acidité sur 20 cc. = 2 cc. de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 419.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.
Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.
Réaction de Legal. . . . . : Négative.
Épreuve du compte-gouttes : 100,5 à 16° (correction inutile).
Donc pas de production d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.
Son extrait éthéré donne :
Réaction de Berg : Positive.
Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.
Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XXX. — Variété. 4.L.Δ.
Durée de la culture : 369 jours.

Culture peu abondante présentant tous les caractères de celle de l'expérience VI.

Liquide limpide, clair, peu aromatique.
Volume recueilli 400 cc.
Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 0 cc, 6 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 112.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.
Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.
Réaction de Legal . . . . . : Négative.
Épreuve du compte-gouttes : 101 gouttes à 21°.
Soit : 99,5 — à 15°.
Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.
Son extrait éthéré donne :
Réaction de Berg : Positive.
Formation d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.
Donc formation d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

La question de l'inversion préalable ne se pose pas pour la variété Schenk qui ne fermente pas.

Elle a été étudiée sur deux autres variétés 2.β.g et 4.L.Δ au moyen de la technique indiquée plus haut. Les résultats sont différents pour ces deux variétés : incontestablement 2. β, g hydrolyse le saccharose avant de le faire fermenter ; je ne saurais être aussi affirmatif pour 4, L, Δ dont

le pouvoir réducteur sur l'acétate de cuivre s'est montré tellement faible que je n'ose en tirer une conclusion ferme, d'autant plus que ce pouvoir réducteur s'est montré également faible vis-à-vis de la liqueur de Fehling que le saccharose ne réduit pas, mais que ses produits de dédoublement réduisent intensément.

Expérience XXXI. — Variété 2.β.*g*.
Durée de la culture : 40 jours.

Culture très faible formée de quelques flocons blancs nageant au sein du liquide.

Réaction acide au tournesol.

Action sur la liqueur de Fehling : réduction faible mais instantanée à l'ébullition.

Action sur l'acétate de cuivre : réduction instantanée.

Expérience XXXII. — Variété 4.L.Δ.
Durée de la culture : 102 jours.

Culture à peu près nulle, à peine deux ou trois colonies.

Réaction sensiblement neutre au tournesol.

Action sur la liqueur de Fehling } presque nulles.
Action sur l'acétate de cuivre }

2° Maltose.

La fermentation du maltose n'a été étudiée d'une façon détaillée qu'avec les trois variétés Schenk, 2.β.*g* et 4.L.λ. Ces deux premières variétés font nettement fermenter le maltose avec production d'acide lactique; avec ce sucre leurs cultures paraissent même particulièrement abondantes. 4.L.Δ au contraire ne le fait pas fermenter. Je me suis assuré par culture sur milieux maltosés-tournesolés que les trois autres variétés 1.α.R, 3.γ. N et Rossignol font également fermenter le maltose avec production d'un acide.

Ce sucre réduisant la liqueur de Fehling, il ne me restait plus ici que la réaction de l'acétate de cuivre pour trancher la question de l'hydrolyse préalable. Grâce à la netteté de la

réaction dans ces deux cas, j'ai pu me rendre compte que le maltose était dédoublé avant d'être utilisé.

Voici les résultats obtenus :

Expérience XXXIII. — Variété Schenk.

Durée de la culture : 99 jours.

Culture extrêmement abondante formant un voile uni, blanc ivoire, dissociable par agitation.

Liquide parfaitement limpide, clair, odeur très fortement aromatique.

Volume recueilli : 375 cc.

Acidité sur 20 cc. = 2 cc. de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 349.

Distillatum. — Réaction neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 99,5 gouttes à 15°.

Donc pas de production d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne :

Réaction de Berg : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XXXIV. — Variété 2.β.*g*.

Durée de la culture : 59 jours.

Culture très abondante présentant tous les caractères de la précédente.

Liquide limpide, clair, fortement aromatique.

Volume recueilli : 440 cc.

Réaction nettement acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 1 cc. 8 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 g. 369.

Distillatum. Réaction neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 100,5 gouttes à 15°.
Donc pas de production d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.
Son extrait éthéré donne :
Réaction de Berg : Positive.
Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.
Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XXXV. — Variété 4.L.Δ.
Durée de la culture : 78 jours.

Culture assez maigre, présentant les caractères de celles de l'expérience VI.

Liquide filtré un peu louche, fortement coloré, présente une odeur urineuse.

Réaction alcaline au tournesol (1).

Alcalinité sur 20 cc. = 0 cc. 3 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Distillatum. — Alcalin au tournesol.
Précipite le réactif de Nessler : donc présence d'ammoniaque.
Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.
Réaction de Legal . . . . . : Négative.
Redistillé, sur acide oxalique en excès, donne au compte-gouttes de Duclaux : 100 gouttes à 16° (correction inutile).
Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Neutre.
Distillé sur un excès d'acide oxalique, donne un distillatum neutre au tournesol. Donc pas d'acides volatils.
Extrait éthéré du résidu, ne présente ni cristaux, ni réaction des acides-alcools. Donc ni acide succinique, ni acide lactique.

Quant à la question de l'hydrolyse préalable du maltose, elle ne se pose que pour les deux premières variétés, puisque 4.L.Δ ne fait pas fermenter ce sucre. Pour la résoudre, j'ai opéré, comme je l'ai indiqué plus haut, par culture sur solution maltosée pure.

1. Dans les deux expériences faites avec cette variété j'ai omis de noter le volume de liquide recueilli.

Expérience XXXVI. — Variété Schenk.
Durée de la culture : 64 jours.

Culture relativement très abondante, aussi bien à la surface qu'au sein du liquide. Il n'y a cependant pas de voile proprement dit. La couleur de cette culture est blanc mat.

Après filtration le liquide est parfaitement limpide et aromatique.

Réaction acide au tournesol.

Réduit la liqueur de Fehling.

Réduit abondamment et instantanément à l'ébullition la solution d'acétate de cuivre.

Expérience XXXVII. — Variété : 2.β.*g*.
Durée de la culture : 40 jours.

Culture présentant les mêmes caractères que la précédente.

Liquide filtré limpide, présente une odeur très aromatique.

Réaction acide au tournesol.

Réduit la liqueur de Fehling.

Réduit instantanément à l'ébullition, mais pas très abondamment, l'acétate de cuivre.

Conclusion. — Dans ces deux cas, il y a donc eu nettement interversion du maltose.

3° Lactose.

Contrairement à ce qui s'est passé pour le saccharose, la variété Schenk est la seule qui fasse fermenter le lactose. Dans ce cas la fermentation est précédée de l'hydrolyse du lactose. Cette hydrolyse a été mise en évidence par culture sur solution lactosée qui, après culture, a réduit immédiatement à chaud l'acétate de cuivre, ce que le lactose est incapable de faire.

Expérience XXXVIII. — Variété Schenk.
Durée de la culture : 233 jours.

Culture abondante, formée surtout d'un voile blanc grisâtre, ne se dissociant pas du tout par agitation, et de quelques flocons au sein du liquide.

Liquide limpide, clair, d'odeur aromatique.

Volume recueilli : 410 cc.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 0 cc., 6 de $NaOH\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr., 114.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Faible, mais positive.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 101 gouttes à 20°,

soit : 99,5 gouttes à 15°.

Donc pas de production d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne :

Réaction de Berg. . : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience XXXIX. — Variété Schenk.

Durée de la culture : 103 jours.

Culture à peu près nulle, formée de 3 ou 4 colonies, nageant dans le liquide.

Réaction neutre.

Réduit abondamment la liqueur de Fehling (lactose).

Réduit instantanément à l'ébullition, mais faiblement, l'acétate de cuivre.

Donc faible hydrolyse du lactose.

Expérience XL. — Variété : 1.α.R.

Durée de la culture : 474 jours.

Culture très peu abondante, donnant un voile incomplet, uni, blanc, grisâtre à la surface du liquide, quelques flocons blancs au fond du ballon.

Liquide limpide à la filtration, assez coloré, odeur urineuse et de moisi.

Volume recueilli : 450 cc.

Alcalinité sur 20 cc. = 3 cc., 6 de $NaOH\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr., 137.

Distillatum. — Alcalin au tournesol.

Précipite abondamment le réactif de Nessler : donc présence de AzH^3.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Après redistillation sur acide oxalique, donne au compte-gouttes de Duclaux : 101 gouttes à 18°,

soit : 100 gouttes à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Faiblement alcalin au tournesol.

Distillé sur acide oxalique en excès, fournit un distillatum neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Extrait éthéré du résidu ne donne ni cristaux, ni réaction des acides alcools : donc ni acide succinique, ni acide lactique.

Expérience XLI. — Variété $2.\beta.g$.

Durée de la culture : 240 jours.

Culture très peu abondante, présentant des caractères identiques à la précédente.

Liquide limpide, assez coloré, odeur urineuse et de moisi.

Volume recueilli : 430 cc.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 1 cc.2 de $NaOH\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 044.

Distillatum. — Alcalin au tournesol.

Précipite le réactif de Nessler, donc présence d'ammoniaque.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Après redistillation sur acide oxalique, donne au compte-gouttes de Duclaux : 101 gouttes à 21°, soit 99 gouttes à 15°.

Il n'y a donc pas de production d'alcool.

Résidu. — Neutre.

Distillé sur acide oxalique, donne un distillatum neutre. Donc pas de production d'acides volatils.

Extrait éthéré, ne donne ni cristaux, ni réaction des acides alcools; donc ni acide succinique; ni acide lactique.

Expérience XLII. — Variété 3.γ.N.

Durée de la culture : 491 jours.

Culture très maigre, voile presque nul, est presque uniquement formée d'un enduit incolore attaché aux parois du ballon et piqueté de petites colonies punctiformes brun noirâtre. La culture s'est également effectuée un peu autour de la rondelle de liège qui lui servait de support.

Liquide limpide, assez fortement coloré, odeur de vieille urine fébrile.

Volume recueilli : 400 cc.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 3 cc. de Na OH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 086.

Distillatum. — Alcalin au tournesol.

Précipite le réactif de Nessler, donc présence d'ammoniaque.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Après redistillation sur acide oxalique, donne au compte-gouttes de Duclaux 100,5 gouttes à 17°, soit 99,5 gouttes à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Faiblement alcalin.

Distillé sur acide oxalique, fournit un distillatum neutre, donc il n'y a pas production d'acides volatils.

Extrait éthéré, ne donne ni cristaux ni réaction des acides alcools, donc ni acide succinique, ni acide lactique.

Expérience XLIII. — Variété Rossignol.

Durée de la culture : 491 jours.

Culture très maigre, mêmes caractères que les précédentes.

Liquide de culture, présente également les mêmes caractères que le précédent.

Volume recueilli : 450 cc.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 3 cc. 2 de Na OH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 104.

Distillatum. — Fortement alcalin au tournesol.

Précipite le réactif de Nessler, donc présence d'ammoniaque.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Nessler. . . . . : Négative.

Après redistillation sur acide oxalique, donne au compte-gouttes de Duclaux : 100 gouttes à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Alcalin au tournesol.

Distillé sur acide oxalique donne un distillatum neutre. Il n'y a donc pas de production d'acides volatils.

Extrait éthéré du résidu, ne donne ni cristaux ni réaction des acides alcool, donc ni acide succinique, ni acide lactique.

Expérience XLIV. — Variété 4.L.Δ.

Durée de la culture : 467 jours.

Culture présentant tous les caractères de celle de l'expérience VI, mais moins abondante.

Liquide filtrant légèrement louche, couleur très foncée, odeur urineuse et de moisi.

Volume recueilli 450 cc.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 2 cc. 4 de Na OH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 092.

Distillatum. — Alcalin au tournesol.

Précipite le réactif de Nessler, donc contient de l'ammoniaque.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Après redistillation sur acide oxalique, donne au compte-gouttes de Duclaux : 100 gouttes à 16°, correction inutile.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Neutre.

Distillé sur acide oxalique, fournit un distillatum neutre au tournesol, donc pas de formation d'acides volatils.

Extrait éthéré du résidu, ne donne ni cristaux, ni réaction des acides alcools, donc ni acide succinique, ni acide lactique.

CHAPITRE VI

Fermentation des polysaccharides.

Dans cette série de corps je me suis limité à l'étude de la fermentation de trois substances :

Dextrine
Inuline
Amidon

On pourrait croire *a priori* que l'étude des deux dernières substances serait suffisante : l'attaque de l'amidon, substance plus complexe que la dextrine, donnant justement la dextrine comme premier terme d'hydratation. Il n'en est rien et l'expérience m'a prouvé que, alors que la dextrine commerciale préparée par voie chimique (action d'une température de 120-150° sur de l'amidon humecté d'acide azotique étendu) n'était attaquée par aucun de mes échantillons de sporotrichum, celle au contraire qui provient de l'hydratation de l'amidon par l'amylase sécretée par les sporotricha donne une dextrine qui est parfaitement utilisable par ces mêmes organismes. Quant à l'inuline elle constitue un milieu de choix pour tous les échantillons, sauf pour 4.L.Δ qui ne l'attaque pas.

1° Dextrine.

La dextrine peptonée en milieu identique aux précédents n'a fermenté avec aucun des six échantillons étudiés.

Expérience XLV. — Variété Schenk.

Durée de la culture : 318 jours.

Culture assez abondante formant un voile blanc grisâtre. homogène, uni, pas dissociable par agitation.

Liquide limpide, assez foncé, d'odeur urineuse.

Volume recueilli 425 cc.

Réaction faiblement alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 0cc. 6 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 022.

Distillatum. — Alcalin au tournesol.

Précipite le réactif de Nessler; contient donc de l'ammoniaque.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Après redistillation sur acide oxalique donne au compte-gouttes de Duclaux :

102 gouttes à 23°.

Soit 100 gouttes à 15°.

Donc pas de production d'alcool.

Résidu. — Neutre.

Distillé sur acide oxalique fournit un distillatum neutre, donc ne contient pas d'acides volatils.

Son extrait éthéré ne fournit ni cristaux, ni réaction des acides alcools; donc ni acide succinique, ni acide lactique.

Expérience XLVI. — Variété 1.α.R.

Durée de la culture : 269 jours.

Culture très abondante formée d'un voile blanc opalin se dissociant assez facilement par agitation.

Liquide limpide, assez coloré, d'odeur faiblement urineuse et de moisi.

Volume recueilli 430 cc.

Réaction faiblement alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 0 cc. 8 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 029.

Distillatum. — Alcalin.

Précipite le réactif de Nessler; renferme donc de l'ammoniaque.

Réation de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Après redistillation sur acide oxalique donne au compte-gouttes de Duclaux :

102 gouttes à 22°.

Soit 100 gouttes à 15°.

Ne contient donc pas d'alcool.

Résidu. — Sensiblement neutre au tournesol.

Distillé sur acide oxalique fournit un distillatum neutre au tournesol. Donc pas de formation d'acides volatils.

Extrait éthéré du résidu ne fournit ni cristaux, ni réaction des acides alcools; donc ni acide succinique, ni acide lactique.

Expérience XLVII. — Variété 2.β.g.

Durée de la culture : 364 jours.

Culture abondante en voile uni présentant les mêmes caractères que plus haut.

Liquide limpide, clair, odeur urineuse.

Volume recueilli 400 cc.

Réaction alcaline.

Alcalinité sur 20 cc. = 1 cc. de Na OH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon ammoniaque = 0 gr. 034.

Distillatum. — Alcalin.

Précipite le réactif de Nessler; donc contient AzH^3.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Après redistillation sur acide oxalique donne au compte-gouttes de Duclaux :

102 gouttes à 21°.

Soit 100 gouttes à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Neutre.

Distillé sur acide oxalique fournit un distillatum neutre au tournesol. Donc pas d'acides volatils.

Extrait éthéré ne fournit ni cristaux, ni réaction des acides alcools; donc ni acide succinique, ni acide lactique.

Expérience XLVIII. — Variété 3.γ.N.

Durée de la culture : 124 jours.

Culture abondante présentant sensiblement les mêmes caractères que la précédente.

Liquide limpide, assez coloré, d'odeur urineuse.

Volume recueilli 450 cc.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 0 cc. 6 de Na OH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 023.

Distillatum. — Nettement alcalin au tournesol.

Précipite légèrement le réactif de Nessler ; contient donc AzH^3.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Après redistillation sur acide oxalique donne au compte-gouttes de Duclaux :

100 gouttes à 16°.

Donc pas de production d'alcool.

Résidu. — Presque neutre.

Distillé sur acide oxalique donne un distillatum neutre au tournesol; donc pas d'acides volatils.

Extrait éthéré du résidu ne donne ni cristaux, ni réaction des acides alcools; donc ni acide succinique, ni acide lactique.

Expérience XLIX. — Variété Rossignol.

Durée de la culture : 365 jours.

Culture présentant les mêmes caractères que les précédentes, mais un peu moins abondante.

Liquide limpide à odeur urineuse.

Volume recueilli 400 cc.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 0cc. 5 de Na OH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 017.

Distillatum. — Alcalin.

Précipite faiblement le Nessler ; donc contient AzH^3.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Après redistillation sur acide oxalique donne au compte-gouttes de Duclaux :

101 gouttes à 17°.

soit 100 gouttes à 15°.

Donc pas de production d'alcool.

Résidu : Neutre.

Distillé sur acide oxalique donne un résidu neutre au tournesol; donc pas d'acides volatils.

Extrait éthéré du résidu ne donne ni cristaux, ni réaction des acides alcools; donc ni acide succinique, ni acide lactique.

Expérience L. — Variété 4.L.Δ.

Durée de la culture 377 jours.

Culture extrêmement abondante, présentant tous les caractères morphologiques de celle de l'expérience XXI.

Liquide filtré un peu louche, couleur très foncée, odeur franchement urineuse.

Volume recueilli 390 cc.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 0 cc.9 de Na OH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque = 0 gr. 030.

Distillatum. — Franchement alcalin.

Précipité réactif de Nessler; donc renferme AzH^3.

Réaction de la fuchsine bisulfatée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Redistillé sur acide oxalique donne au compte-gouttes de Duclaux :

101 gouttes à 21°.

Soit 99 gouttes à 15°.

Il n'y a donc pas production d'alcool.

Résidu. — Presque neutre au tournesol.

Distillé sur acide oxalique donne un distillatum neutre.

Il n'y a donc pas production d'acides volatils.

Extrait éthéré du résidu ne donne ni cristaux, ni réaction des acides alcools; donc ni acide succinique, ni acide lactique.

2° Inuline.

Comme je l'ai signalé plus haut, l'inuline paraît fournir un milieu de choix pour la plupart des variétés de Sporotrichum. Toutes y ont donné d'abondantes cultures en faisant fermenter ce sucre, sauf le dernier échantillon 4.L.Δ qui n'y a poussé que maigrement en alcalinisant le milieu.

Je n'ai étudié de façon détaillée la fermentation de l'inuline qu'avec les 5 variétés : Schenk, 2.β.G et 4.L.Δ. Je me suis cependant assuré par culture sur inuline tournesolée que des trois autres échantillons 1.α.R,3.γ.N et Rossignol attaquent également ce sucre en acidifiant le milieu.

Une culture sur solution d'inuline pure permet de reconnaître que les 2 variétés Schenk et 2.β.G. hydrolysent ce sucre avant de le consommer. En effet l'inuline ne réduit ni la liqueur de Fehling ni l'acétate de cuivre qui le sont au contraire immédiatement par son produit d'hydrolyse, le lévulose.

C'est avec cette variété de sucre que le ballon témoin a produit la plus forte réduction, j'ai obtenu une réduction franchement jaune avec le liquide de ce témoin, mais dans le même temps le liquide des ballons de culture me donnait une réduction abondante et franchement rouge d'oxydule de cuivre.

— Voici les protocoles d'analyses concernant la fermentation :

Expérience LI. — Variété Schenk.

Durée de la culture : 67 jours.

Culture extrêmement abondante, formée d'une série de voiles superposés dont le dernier seul surnage le liquide. Ce voile est blanc mat, uni, ne se dissocie pas par agitation.

Liquide filtré limpide, clair, son odeur est très aromatique.

Volume recueilli : 450 cc.
Réaction acide.

Acidité sur 20 cc. = 4 cc. 3 de Na OH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 901.

Distillatum. — Réaction neutre au tournesol; donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée, positive, mais très faible.

Réaction de Legal . . . . . Négative.

Épreuve du compte-gouttes donne 100 gouttes à 16°.

Donc pas d'alcool formé.

Résidu. — Fortement acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne :

Réaction de Berg : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.

Production d'iodoforme par I + KOH.

Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience LII. — Variété 2.β.g.

Durée de la culture : 81 jours.

Culture extrêmement abondante, présentant les mêmes caractères que la précédente.

Liquide limpide, clair, d'odeur très aromatique.

Volume recueilli : 450 cc.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 2 cc. 6 de Na OH $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique = 0 gr. 545.

Distillatum. — Réaction neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 101 gouttes à 20°.

Soit 99,5 gouttes à 15°.

Donc pas de production d'alcool.

Résidu. — Franchement acide au tournesol.

Son extrait éthéré donne :

Réaction de Berg : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2.
Production d'iodoforme avec I + KOH.
Donc présence d'un acide fixe qui est l'acide lactique.

Expérience LIII. — Variété 4.L.Δ.

Durée de la culture : 395 jours.

Culture peu abondante présentant tous les caractères de celle de l'expérience VI.

Liquide filtré un peu louche, coloré, présente une odeur urineuse et de moisi.

Volume recueilli : 425 cc.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. = 1 cc. 1 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Alcalinité totale du ballon en ammoniaque 0 gr. 040.

Distillatum. — Réaction alcaline.

Précipite le réactif de Nessler; donc contient AzH^3.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Après redistillation sur acide oxalique, donne, au compte-gouttes de Duclaux :

99 gouttes à 12°.
soit 100 gouttes à 15°.

Donc pas de production d'alcool.

Résidu. — Sensiblement neutre.

Distillé sur acide oxalique, donne un distillatum neutre au tournesol; donc pas d'acides volatils.

Extrait éthéré ne donne ni cristaux, ni réaction des acides alcools; donc ni acide succinique, ni acide lactique.

J'ai dit plus haut que les variétés Schenk et 2.β.g intervertissent le maltose avant de le faire fermenter. Voici deux expériences sur lesquelles je me base pour avancer ce fait :

Expérience LIV. — Variété Schenk.

Durée de la culture : 85 jours.

Culture relativement très abondante formant un voile à la surface du liquide et des flocons blancs au fond du ballon.

Liquide limpide après filtration, odeur aromatique nette, mais faible.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 0 cc. 4 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Réduit immédiatement à l'ébullition la liqueur de Fehling.

Réduit immédiatement à chaud l'acétate de cuivre.

Expérience LV. — Variété 2.β.*g*.

Durée de la culture : 87 jours.

Culture très abondante présentant les mêmes caractères que la précédente.

Liquide filtré limpide, présente une odeur aromatique nette.

Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 0 cc., 6 de NaOH $\frac{N}{10}$.

Réduit immédiatement à chaud la liqueur de Fehling.

Réduit également dans les mêmes conditions la solution d'acétate de cuivre.

3° Amidon.

J'ai fait, à propos de l'amidon, deux séries d'expériences, dans des conditions totalement différentes, et j'ai, comme on pouvait s'y attendre, obtenu aussi des résultats différents.

Dans la première série j'ai cultivé dans des tubes à gélose, sur un empois faisant prise et par suite sur milieu solide à l'empois pur, les diverses variétés de sporotrichum dont j'étudie l'action.

Au bout de 76 jours, les diverses variétés avaient proliféré avec les caractères suivants :

Expérience LVI.

Schenk. — Culture blanc jaune au centre, blanche sur l'auréole qui est très large, bord de l'auréole réticulée, pas de circonvolutions.

I.α.R. — Même aspect des colonies, centre un peu plus foncé.

2.β.g. — Culture brun noir et lisse, auréole blanche, la partie de la culture située sur le verre est blanche.

3.γ.N. — Culture très noire, auréole blanc brun.

Rossignol. — Culture noir brun au fond et au haut du tube, au mi-

lieu reflet porcelainé avec ébauche de circonvolutions à auréole noire.

4. L. Δ. — Culture brun noir, pointillée.

Aucun des tubes ne présentait trace de liquéfaction.

Dans la seconde série, au contraire, j'ai opéré en milieu liquide en faisant un empois avec 1 gramme d'amidon dans 100 grammes d'eau. On obtient ainsi après stérilisation un milieu fluide, fortement opalescent et dont le ballon témoin n'abandonne, même après plusieurs semaines, aucun dépôt notable.

Expérience LVII. — Variété Schenk.

Durée de la culture : 63 jours.

Culture très peu abondante, à peine quelques maigres colonies opalines visibles à jour frisant.

Après un mois de culture à 24° pas de changement sensible, mais alors tout d'un coup en deux ou trois jours le liquide opalin s'éclaircit, un résidu abondant tombe au fond du ballon et le liquide surnageant reste parfaitement limpide. Puis de nouveau aucun changement apparent.

Le liquide décanté et filtré ne donne plus de coloration bleue par l'iode, mais donne la coloration pourpre des érythrodextrines. Ce liquide précipite par addition de son volume d'alcool. Sa réaction est acide.

Il réduit la liqueur de Fehling et l'acétate de cuivre, ce qui ne fait pas sensiblement l'empois d'amidon.

Donc l'amidon paraît complètement hydrolysé.

Expérience LVIII. — Variété 2.β.g.

Durée de la culture : 56 jours.

Culture très faible bien qu'un peu plus abondante que la précédente. Pendant 25 jours environ on ne remarque aucune variation sensible dans l'opalescence du liquide, mais à partir de ce moment le liquide s'éclaircit *progressivement* (et non brusquement comme dans le cas précédent) avec formation d'un dépôt abondant au fond du ballon.

Les réactions sont de tout point identiques à celles observées dans le cas précédent.

Expérience LIX. — Variété 4.L.Δ.

Durée de la culture : 102 jours.

Culture à peu près nulle formée de trois colonies très maigres, couleur café au lait, surnageant le liquide.

Ce liquide est aussi opalescent qu'au premier jour, pas de dépôt au fond du ballon.

Il se colore fortement en bleu par l'iode.

Ne réduit pas la liqueur de Fehling.

A une réaction neutre au tournesol.

Donc l'amidon ne paraît pas attaqué par cette variété.

Le produit ultime de l'hydratation de l'amidon étant le glucose et, comme je l'ai montré plus haut, le glucose fermentant sous l'influence des sporotricha en donnant de l'acide lactique, il est à prévoir que l'amidon arrivera lui aussi à nous donner de l'acide lactique. C'est en effet ce que démontre l'expérience directe en faisant fermenter un empois à 170 gr. d'amidon additionné de $\frac{1}{2}$ pour 100 de peptone :

Expérience LX. — Variété Schenk.

Durée de la culture : 105 jours.

Culture pas très abondante, formant un voile léger, blanc crème, peu dissociable par agitation. Quelques flocons à l'intérieur du liquide.

Liquide de culture limpide surnageant un dépôt assez abondant, odeur faiblement aromatique.

Volume recueilli : 470 cc.

Réaction nettement acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. = 0 cc., 8 SO^4H^2 $\frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique 0 gr. 175.

Distillatum. — Réaction neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 100 gouttes à 16°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Nettement acide au tournesol.

Réaction de Berg. : Positive.

Production d'aldéhyde par chauffage avec PbO^2

Donc production d'acide lactique.

Expérience LXI. — Variété 2. β. g.

Durée de la culture : 92 jours.

Culture et liquide de culture très semblables aux précédents.

Volume recueilli : 450 cc.
Réaction acide au tournesol.

Acidité sur 20 cc. en face de phénolphtaléine $= 0$ cc, 4 $SO^4 H^2 \frac{N}{10}$.

Acidité totale du ballon en acide lactique 0 gr. 084.

Distillatum. — Neutre au tournesol : donc pas d'acides volatils.
Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.
Réaction de Legal. . . . . : Négative.
Épreuve du compte-gouttes : 101 gouttes à 18°.
Soit : 100 gouttes à 15°.
Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Acide au tournesol.
L'extraction par l'éther donne trop peu d'acide pour faire la détermination. Néanmoins, par analogie avec ce que j'ai toujours trouvé, je crois pouvoir conclure que, là aussi, j'ai affaire à de l'acide lactique.

Expérience LXII. — Variété 4. L. Δ.

Durée de la culture : 106 jours.

Culture extrêmement faible formée d'une légère prolifération autour du bouchon soutien, quelques colonies nageant à la surface du liquide et présentant les caractères signalés dans l'expérience VI.

Liquide un peu louche à la filtration, assez fortement teinté, odeur urineuse et de moisi.

Réaction alcaline au tournesol.

Alcalinité sur 20 cc. $=$ 1 cc, 3 de Na OH $\frac{N}{10}$ (1)

Distillatum. — Alcalin au tournesol.
Précipite nettement le réactif de Nessler, contient donc Az H^3.
Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.
Réaction de Legal . . . . . : Négative.
Après redistillation sur acide oxalique, le compte-gouttes de Duclaux donne : 101 gouttes à 17°.
Soit. . . . : 100 gouttes à 15°.
Donc pas de formation d'alcool.

1. Dans cette expérience j'ai omis de relever le volume du liquide recueilli.

Résidu. — Neutre.

Distillé sur acide oxalique, fournit un distillatum neutre : donc pas d'acides volatils.

Extrait éthéré du résidu ne fournit ni cristaux, ni réaction des acides alcools, donc ni acide succinique, ni acide lactique.

En résume : ici encore 4 L Δ se distingue d'une façon tout à fait spéciale des autres variétés. Les premières en effet hydrolysent l'amidon, puis le font fermenter en fournissant finalement de l'acide lactique. 4 L Δ au contraire n'y touche pas, étant incapable de fournir la première partie de cette fermentation.

CHAPITRE VII

Influence de la réaction du milieu de culture. Fermentation du lactate de calcium.

Dans toute la série d'expériences précédentes j'ai laissé le milieu de culture s'acidifier sous l'influence du processus fermentatif. Il était intéressant de rechercher ce que devenait la fermentation dans le cas où l'on sature l'acide au fur et à mesure de sa production.

Pour cela, j'ai préparé des milieux identiques aux précédents, mais auxquels j'ai ajouté du carbonate de chaux pur en excès, de façon à saturer les acides produits. J'ai fait fermenter deux séries de ballons, la première comportant un milieu glucosé, la seconde un milieu glycériné. Les résultats ont été identiques dans les deux cas.

1° Glycérine.

Expérience LXIII. — Variété 1.α.R.
Durée de la fermentation : 409 jours.

Culture très abondante, formée d'une série de voiles dont un seul surnage. Ce dernier est lisse, blanc opalin, très homogène; il ne se dissocie pas, par agitation du liquide.

Ce liquide de culture est parfaitement limpide après filtration, son odeur est aromatique, sa réaction est neutre, bien entendu; il donne un précipité assez abondant par l'oxalate d'ammoniaque, il y a donc dissolution de chaux et par suite production d'acide : 400 cc. de liquide filtré sont distillés :

Distillatum. — Recueilli : 300 c.c. qui sont redistillés pour en recueillir 150. C'est sur ce dernier distillatum que je fais les réactions suivantes :

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Positive, mais faible.
Réaction de Legal . . . . . : Négative.
Épreuve du compte-gouttes : 102 gouttes à 21°.
Soit : 100 gouttes à 15°.

Donc pas d'alcool formé.

Acides volatils. — Les 100 cc. restant dans les ballons sont transvasés dans un ballon jaugé de 200 cc., précipités par un très léger excès d'acide oxalique, le plein est fait alors à 200 cc. avec de l'eau distillée, et après dépôt du précipité, 110 cc. sont distillés par la méthode de Duclaux.

Je désigne par :

α le volume de liqueur alcaline, nécessaire pour saturer la prise de 10 cc. correspondant au numéro placé en regard, en 1/10 de cc. ;

β le volume total de liqueur alcaline, nécessaire pour saturer les 1, 2... 10 premières prises de 10 cc., en 1/10 de cc. ;

R le rapport du volume de liqueur alcaline nécessaire pour saturer les 1, 2... 10 premières prises d'essai à l'acidité totale passée à la distillation.

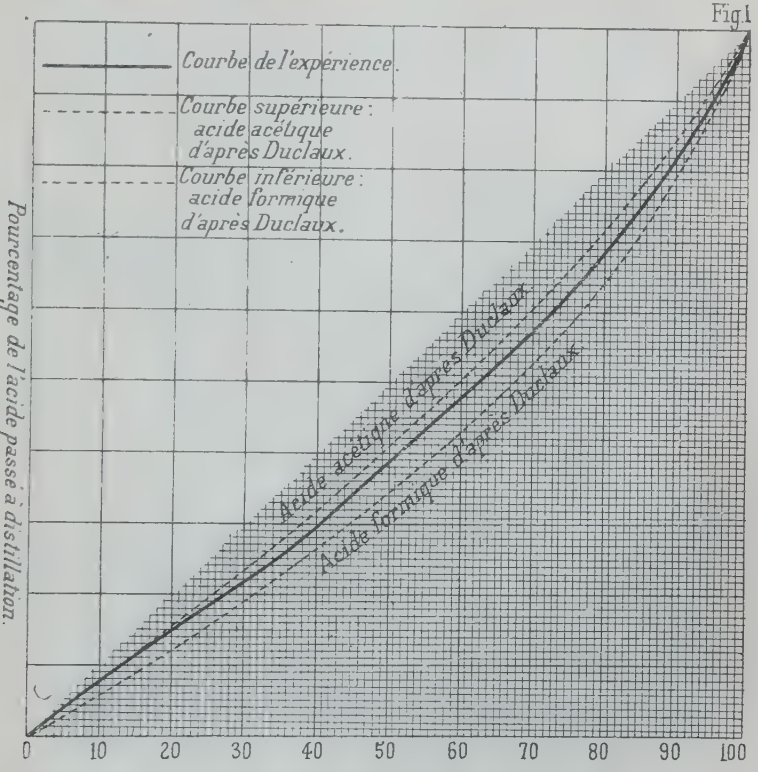
Les résultats sont les suivants :

N°s de la prise d'essai	α	β	R
1	4	4	7,4
2	4	8	14,8
3	4	12	22,2
4	4	16	29,6
5	5	21	39,0
6	5	26	48,2
7	5	31	57,5
8	6	37	68,5
9	7	44	81,6
10	10	54	100,0

Ces résultats sont représentés dans le graphique suivant (fig. 1) par un trait plein à côté des résultats obtenus par Duclaux pour l'acide acétique et l'acide formique. J'ai jugé inutile de reproduire les courbes des autres acides gras, dont la concavité est inverse de celle que j'ai trouvée pour l'acide que je cherche à déterminer.

La courbe trouvée est intermédiaire à l'acide acétique et à l'acide formique, mais plus rapprochée de la première. Je pense donc *a priori*

Fig 1



avoir affaire à de l'acide acétique et j'attribue la différence trouvée à une erreur expérimentale due aux faibles quantités d'acide sur lesquelles j'opère.

Pour m'en assurer, je distille les 90 cc. de liquide qui me restent, je fais deux parts du distillatum. Sur la première partie je cherche à produire la réduction du nitrate d'argent par l'acide formique ; c'est à peine si j'obtiens une légère teinte violette visible seulement sur fond blanc, il n'y a donc que des traces d'acide formique, qui doivent provenir de l'action d'un très léger excès d'acide oxalique sur la glycérine du milieu de culture au cours de la distillation. Quant à la seconde partie, elle est neutralisée à la soude étendue, évaporée et le résidu chauffé avec de l'anhy-

dride arsénieux donne une forte odeur de cacodyle, l'acide formé est donc bien l'acide acétique.

Acides fixes. — Le résidu provenant de la distillation des acides volatils contient un acide fixe qui est l'acide lactique, ainsi que j'ai pu m'en convaincre en l'extrayant par l'éther. L'éther évaporé, le résidu donnait nettement la réaction de Berg.

Expérience LXIV. — Variété 2.β.g.

Durée de la culture : 463 jours.

Culture abondante présentant les mêmes caractères morphologiques que la précédente, sauf que le voile se dissocie par agitation.

Liquide limpide, fortement odorant.

Distillatum. — Neutre au tournesol.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 101 à 18°.

Soit : 100 à 15°.

Acides volatils. — Recherchés comme dans le cas précédent ; les lettres ont la même signification :

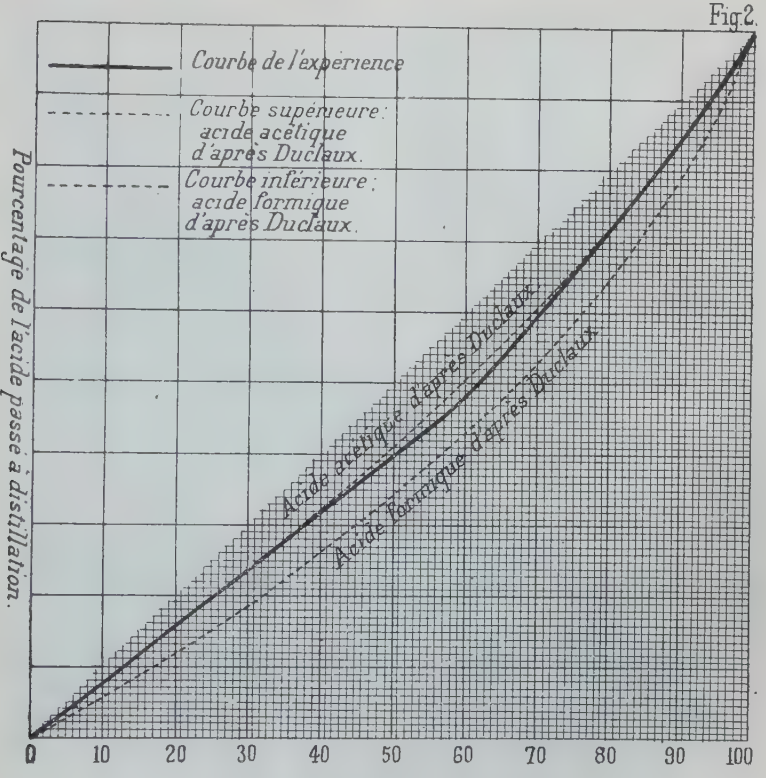
N° des prises d'essai	α	β	R
1	2	2	8
2	2	4	16
3	2	6	24
4	2	8	32
5	2	10	40
6	3	13	48
7	3	16	60
8	3	19	72
9	3	22	84
10	4	26	100

Résultats synthétisés en trait plein dans le graphique ci-après (fig. 2), dans lequel j'ai également reporté en pointillé les valeurs données par Duclaux pour l'acide acétique et l'acide formique.

Ici la courbe indique nettement qu'il s'agit d'acide acétique ; ce que

j'ai vérifié comme précédemment en m'assurant de l'absence de réduction du nitrate d'argent et de la production de cacodyle.

Fig. 2.



Acides fixes. — Le résidu renferme de l'acide lactique : extrait éthéré évaporé donne réaction de Berg.

Expérience LXV. — Variété Rossignol.

Durée de la culture : 410 jours.

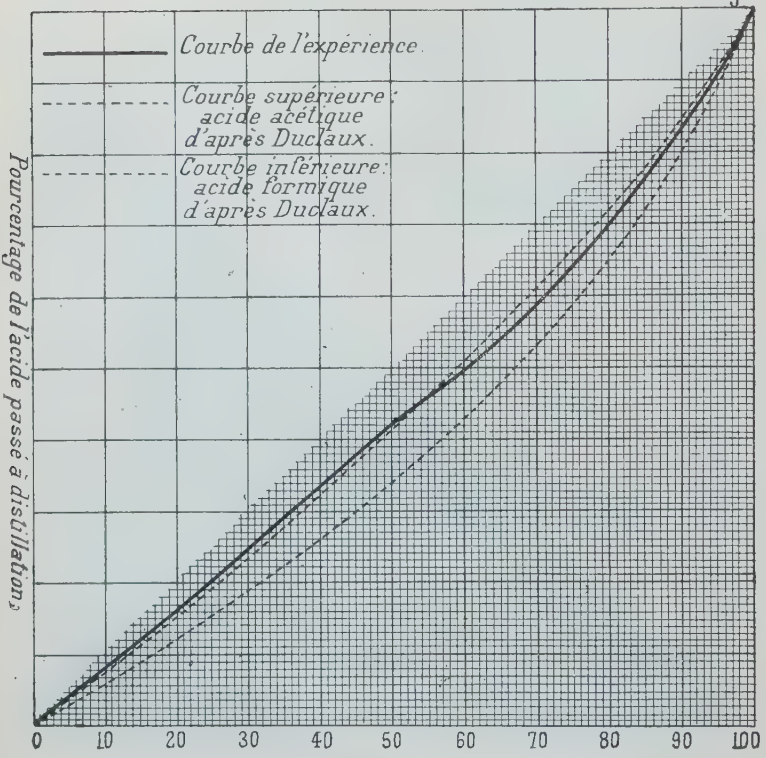
Culture beaucoup moins abondante que les précédentes, voile blanc grisâtre, lisse, non dissociable par agitation.

Liquide limpide après filtration, odeur aromatique.

Distillatum. — Neutre au tournesol.

Réaction de la fuchsine bisulfitée à peine sensible.
Réaction de Legal. . . . . : Négative.

Fig.3.



Épreuve du compte-gouttes : 100 à 17°.
Soit : 99,5 à 15°.

Donc pas d'alcool formé.

Acides volatils. — Recherchés toujours comme dans l'expérience LXIII ; les lettres ont la même signification.

N°s de la prise d'essai	α	β	R
1	2	2	8,4
2	2	4	16,7
3	2	6	25,0

N°s des prises d'essai	α	β	R
4	2	8	33,4
5	2	10	41,6
6	2	12	50,0
7	2	14	58,4
8	3	17	71,0
9	3	20	83,2
10	4	24	100

Résultats exprimés en trait plein dans le graphique suivant (fig. III) à côté des valeurs indiquées par Duclaux pour les acides acétique et formique j'y ai exprimé en pointillé.

Cette courbe exprime qu'il n'y a qu'un seul acide volatil formé qui est l'acide acétique. C'est ce que j'ai vérifié par la production du cacodyle et la constatation d'absence de réduction du nitrate d'argent.

Acides fixes. — Le résidu de distillation épuisé par l'éther donne la réaction des acides alcools de Berg; il contient donc encore de l'acide lactique.

2° Glucose.

La fermentation du glucose en milieu neutre donne des résultats identiques à ceux obtenus avec la glycérine :

Expérience LXVI. — Variété 1.α.R.

Durée de la fermentation : 417 jours.

Culture pas très abondante, formée presque uniquement d'un voile blanc, d'aspect glaireux se dissociant facilement par agitation.

Liquide limpide après filtration, odeur aromatique.

Distillatum. — Neutre au tournesol.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 102 gouttes à 19°

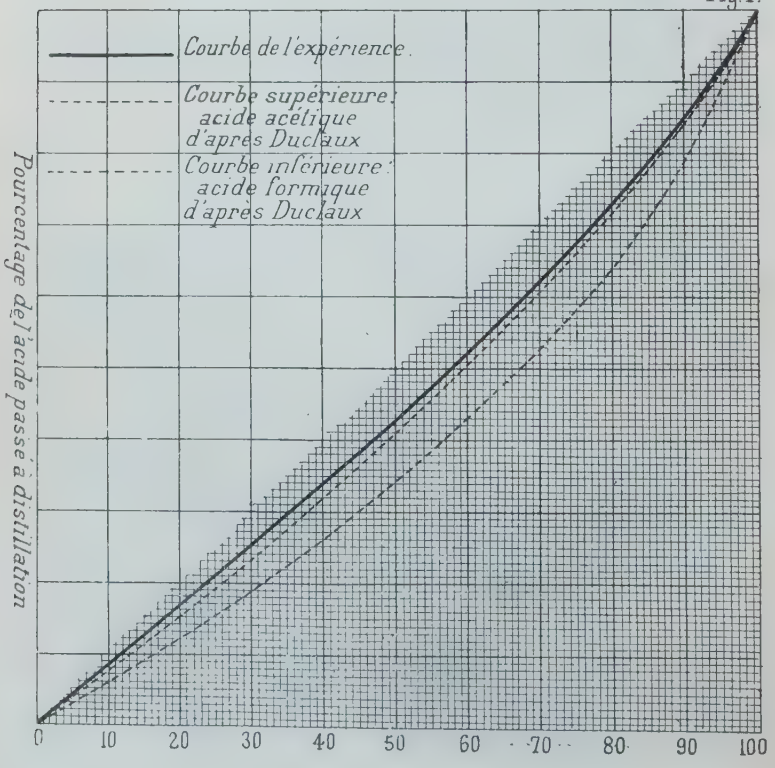
Soit : 100,5 à 15°

Donc pas d'alcool formé.

Acides volatils. — Dosés comme dans les cas précédents, les lettres du tableau ci-dessous ont la même signification que plus haut.

N°s des prises d'essai	α	β	R
1	5	5	8,5
2	5	10	17,0
3	5	15	25,5
4	5	20	34,0
5	5	25	42,4
6	6	31	52,5
7	6	37	62,8
8	6	45	75,0
9	7	50	85,0
10	9	59	100

Fig. 4.



ces résultats sont exprimés dans le graphique ci-contre (fig. 4) par un trait plein et comparés à la courbe type de l'acide acétique, d'après Duclaux, qui a été représentée en pointillé.

Comme on le voit, ces deux courbes sont très voisines l'une de l'autre. La production d'acide acétique a d'ailleurs été vérifiée par la réaction du cacodyle.

Acides fixes. — Le résidu renferme encore de l'acide lactique, le résidu de l'extrait éthéré donnant encore la réaction de Berg.

Expérience LXVII. — Variété 4. L. Δ.

Durée de la culture : 480 jours.

Culture abondante mais ayant peu poussé en voile, formée surtout d'une masse ressemblant plus ou moins à du blanc d'œuf non cuit, criblée de petites colonies fortement pigmentées en noir.

Liquide limpide après filtration, odeur aromatique, teinte jus de tabac.

Distillatum. — Neutre au tournesol.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 101,5 gouttes à 19°.

Soit : 100 gouttes à 15°.

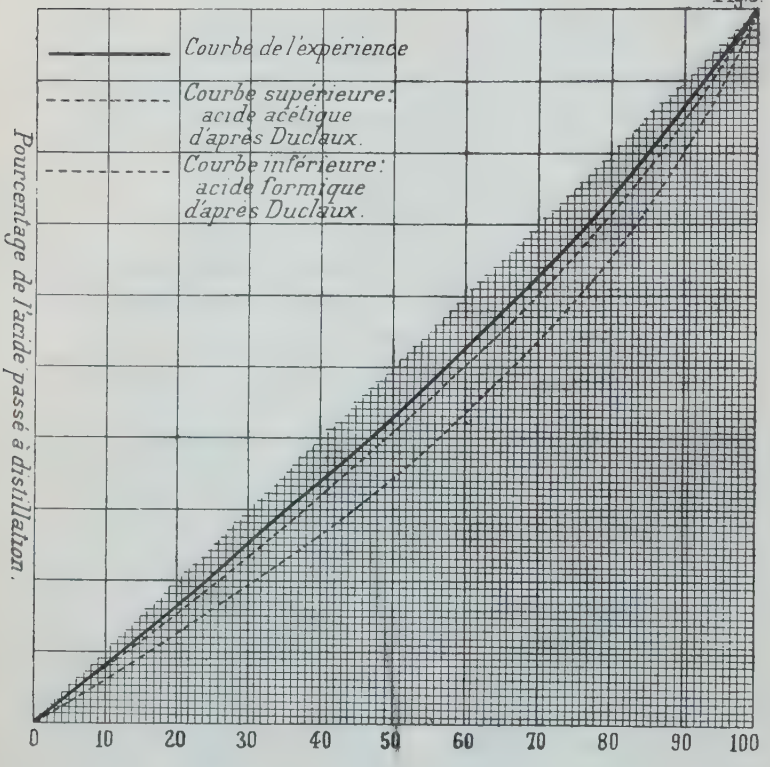
Acides volatils. — Dosés comme précédemment, les lettres du tableau ont aussi même signification qu'au début :

N°s des prises d'essai	α	β	R
1	7	7	7,9
2	7	14	15,8
3	8	22	26,2
4	8	30	33,8
5	8	38	42,7
6	9	47	52,9
7	9	56	63,0
8	10	66	73,5
9	11	77	86,0
10	13	90	100

Valeurs exprimées par un trait plein dans la graphique ci-après (fig. 5) et comparées aux valeurs de l'acide acétique d'après Duclaux, qui y sont marquées en pointillé :

Ces valeurs se correspondent sensiblement et la production d'acide acétique a été vérifiée au moyen de la réaction du cacodyle.

Fig. 5.



Acides fixes. — Le résidu contient de l'acide lactique qui a été mis en évidence sur le résidu de l'extrait éthéré au moyen de la réaction de Berg.

3° Lactate de calcium.

Dans les deux séries d'expériences précédentes on trouve deux acides, les acides lactique et acétique, alors que, lorsqu'on laisse se produire l'acidification du milieu de culture, l'acide lactique se produit seul. Il est donc logique de penser que,

dans le premier cas, le lactate de calcium formé est transformé secondairement en acétate.

Pour vérifier cette hypothèse j'ai soumis directement le lactate de calcium à la fermentation en remplaçant, dans le milieu type qui m'a toujours servi, l'hydrate de carbone par un poids égal de lactate de calcium. J'ai obtenu d'excellentes cultures qui ne le cèdent point en abondance aux plus belles obtenues sur milieux sucrés. L'analyse du liquide de culture m'a démontré qu'il y avait formation d'acide acétique.

Expérience LXVIII. — Variété Schenk.

Durée de la culture : 88 jours.

Culture très abondante ressemblant absolument aux plus belles obtenues avec la même variété.

Liquide limpide, odeur très aromatique.

Distillatum. — Réaction neutre au tournesol.

Réaction de la fuchsine bisulfitée : Négative.

Réaction de Legal . . . . . : Négative.

Épreuve du compte-gouttes : 99,5 gouttes à 15°.

Donc pas de formation d'alcool.

Résidu. — Traité par un excès d'acide oxalique et distillé, fournit un distillatum acide au tournesol qui, neutralisé avec de la soude, évaporé à sec et chauffé avec de l'anhydride arsénieux donne avec intensité l'odeur du cacodyle.

N. B. — Les produits restés sur le filtre traités par HCl donnent lieu à un dégagement de gaz que j'ai pu caractériser sur une autre culture comme étant du gaz carbonique ; il y a donc formation de carbonate en même temps que d'acétate de calcium.

Avec la même variété, sur même milieu, une seule fois au cours de mes recherches, j'ai noté à un certain moment une forte odeur butyrique du ballon de culture. Cette odeur a disparu en quelques jours et à l'analyse j'ai trouvé, comme dans les autres, uniquement de l'acide acétique. Le repiquage de ce ballon sur pomme de terre glycérinée m'a donné une culture pure de sporotrichum. De nouveaux ballons ensemencés avec ce même tube n'ont pas reproduit d'acide butyrique. Je signale ce fait sans en avoir trouvé l'explication.

Conclusion. — Lorsque la fermentation s'accomplit dans un milieu dont la neutralité est maintenue par le carbonate de calcium, on trouve comme produits de la fermentation de l'acide lactique et de l'acide acétique.

Cet acide lactique paraît provenir de l'attaque secondaire du lactate de calcium puisque la fermentation directe de ce dernier donne lieu à la production d'acide acétique.

CHAPITRE VIII

Actions chimiques diverses.

1° Production de l'indol.

Le 18 juin 1907 les six variétés ont été ensemencées sur peptone Martin; dès le 9 juillet tous les tubes ont donné des cultures vigoureuses. L'examen de ces tubes a été fait le 5 octobre suivant, les cultures sont bonnes dans tous les tubes, aucun n'a donné la réaction de l'indol indirectement, ni après addition de nitrite.

2° Action sur l'albumine cuite.

J'ai coagulé une certaine quantité de blanc d'œuf et, dans la masse solide ainsi obtenue, j'ai découpé des prismes quadrangulaires qui ont été introduits dans des tubes à essais avec un peu d'eau glucosée à 1 pour 100 de façon que la partie inférieure du prisme d'albumine baigne dans le liquide sucré. Le tout fut stérilisé à l'autoclave.

Ces tubes furent ensemencés le 17 juin 1907. Le 9 juillet tous les tubes avaient poussé plus ou moins abondamment.

Le 5 octobre ces tubes furent examinés de nouveau, l'état des cultures était le suivant :

Variété.	Culture.
Schenk.	Culture peu abondante.
1-α-β	Culture très abondante.
2-β-g	Une seule grosse colonie.
3-γ-N	Culture peu abondante.
Rossignol	Très maigre.
4-L-Δ	Très abondante, recouvrant tout le prisme.

les prismes d'albumine se tiennent toujours droits, aucun n'a fléchi, les arêtes du prisme paraissent vives, le liquide situé au fond des tubes et le liquide de lavage des prismes, filtré au préalable, ne donne pas la réaction du biuret. Je rapprocherai ces résultats d'un autre que j'ai obtenu dans la même série de recherches et qui concerne un oospora : dans ce cas le prisme d'albumine était fortement attaqué, il avait pris une forme en accordéon et le liquide du tube donnait fortement la réaction du biuret.

3° Action sur le lait.

Aucun des échantillons ne l'a coagulé et par suite n'y a fourni ni présure, ni acide lactique. Cette constatation a lieu de surprendre relativement à la variété Schenk qui, ainsi que je l'ai montré plus haut (page 39, Exp. XXXVIII), fait légèrement fermenter le lactose avec production d'acide lactique.

Lorsque la caséine est préalablement coagulée, aucun des échantillons étudiés ne la redissout. Il n'y a donc pas de sécrétion de caséase.

4° Action sur l'urée.

Pour étudier cette action, j'ai remplacé dans le milieu type indiqué page 12 la peptone par un poids équivalent d'urée pure de façon à ne donner que cet aliment azoté au sporotrichum. La formule de ce milieu est donc :

Glucose.	3 gr.
Urée.	1 gr.
Eau dist.	100 gr.

Deux ballons étaient préparés avec une égale quantité de ce milieu de culture, stérilisés en même temps de façon que

l'action de la chaleur transforme dans chacun d'eux une même quantité d'urée en carbonate d'ammoniaque. L'un des ballons était ensemencé et l'autre servait de témoin. La culture terminée et le liquide des deux ballons ramené au même volume, une même quantité de chacun d'eux était prélevée au moyen d'une pipette placée dans une capsule en porcelaine, puis évaporée dans le vide à froid. Alors les deux capsules étaient portées une demi-heure à 100° pour éliminer le carbonate d'ammoniaque formé. Les deux résidus étaient repris par l'eau, et l'urée dosée dans chacun d'eux au moyen de l'hypobromite. La différence des chiffres obtenus donne la quantité d'urée transformée en carbonate d'ammoniaque par le sporotrichum. Cette méthode est celle indiquée par Miquel [1].

Les cultures obtenues sur ce milieu n'ont jamais été plus abondantes que sur milieu sucré seul sans urée. Parfois même elles ont été absolument nulles. Les résultats chimiques ont été tout aussi discordants : aussi je préfère n'en pas faire état, la question est à reprendre.

5° Action sur les dérivés azotés.

J'ai fait trois séries de recherches sur milieux analogues au précédent dans lequel l'aliment azoté fut successivement un sel ammoniacal (sulfate d'ammoniaque), du nitrate de potassium et du nitrite de potassium. Les milieux ainsi obtenus se sont montrés peu propres au développement du sporotrichum, qui n'y a jamais fourni que de très maigres cultures. De plus, ces différents sels n'ont pas paru modifiés.

Sels ammoniacaux. — Après 71 jours de culture, j'ai

1. Miquel. — *Annales de micrographie*, 1889-1896.

recherché dans le liquide de culture filtré les nitrites avec le réactif de Griess (chlorhydrate de naphtylamine et acide sulfanilique). Je n'ai pas obtenu la plus petite coloration rouge. Il n'y avait pas non plus de nitrates, car le milieu de culture filtré ne donnait qu'un très léger louche avec le chlorhydrate de cinchonamine (réactif de Arnaud et Padé).

Nitrites. — Ne sont pas réduits, car le réactif de Nessler ne décèle dans le milieu de culture aucune trace d'ammoniaque.

Ils ne paraissent pas oxydés, car, si les sels solubles de cinchonamine y donnent un louche notable, ce louche n'en décèle pas moins que des traces de nitrates qui me paraissent dues plutôt à l'oxydation du nitrite pendant la stérilisation.

Nitrates. — Après 105 jours de culture, les liquides filtrés n'ont présenté aux réactifs précédemment indiqués ni traces de nitrites, ni traces d'ammoniaque.

Dans aucun de ces trois cas, il n'a été observé de dégagement de gaz.

CONCLUSIONS

1° Les sporotricha paraissent être des ferments lactiques faibles dans les conditions de mes expériences.

Cette restriction est nécessaire, car on connait, en effet, depuis les expériences de Péré[1], l'influence de la quantité de peptone sur l'intensité de la production de l'acide lactique par les ferments. Cet auteur signale tel ferment lactique, son bacille C par exemple, isolé des selles de l'homme, qui, dans certaines conditions, donnait un rendement de 25 pour 100 d'acide lactique et dont la production tombait à zéro en augmentant la proportion de peptone jusqu'à 40 grammes par litre. Il est donc possible que pareille chose se produise avec les sporotricha et qu'on arrive à des rendements d'acide lactique plus avantageux en faisant varier la composition des milieux de culture.

Cette augmentation de rendement aurait encore un avantage, elle permettrait dans chaque cas d'établir à quelle variété d'acide lactique on a affaire, étude que je n'ai pu tenter à cause de la petite quantité d'acide fourni dans mes cultures.

2° Lorsqu'on maintient la neutralité du milieu au moyen du carbonate de chaux, l'acide lactique est lui-même attaqué avec production d'acide acétique.

3° A côté de ces deux produits principaux, je dois signaler

1. Péré. — *Ann. Inst. Past.*, VI, p. 512, 1892 et VII, p. 637, 1893.

la présence constante de principes odorants qui se forment aux dépens des sucres fermentescibles, car je n'ai jamais constaté l'odeur spéciale et aromatique des cultures que dans les ballons dont le contenu est acidifié.

4° Dans un certain nombre de cas, il y a aussi formation de produits aldéhydiques.

5° Les échantillons qui font fermenter les polysaccharides les hydrolysent préalablement et sécrètent donc, suivant les cas, la série des ferments solubles (sucrase, amylase, maltase, etc.) nécessaires pour ces diverses opérations.

6° Aucun des six échantillons étudiés n'a produit d'indol.

7° Ils n'ont pas davantage produit de trypsine.

8° Leur action sur le lait démontre qu'ils ne sécrètent ni présure, ni caséase.

9° Mes expériences ne me permettent pas de conclure pour ou contre la présence de l'uréase.

10° Les fermentations produites par les divers échantillons de sporotricha étudiés me porteraient à les diviser en trois groupes :

Le premier est formé par le bloc des échantillons 1.α.R, 2.β.g, 3.γ.N et Rossignol, qui, à l'intensité près, donnent des fermentations identiques ;

Le second formé de la variété Schenk est très voisin du précédent mais je le distingue cependant par deux caractères : il ne fait pas fermenter le saccharose et fait au contraire fermenter le lactose alors que le premier groupe agit d'une façon diamétralement opposée ;

Le troisième groupe est représenté par le seul échantillon 4.L.Δ. Il se distingue absolument des précédents tant par

ses caractères culturaux et de pigmentation que par ses caractères de fermentation.

Je résume d'ailleurs tous ces renseignements dans le tableau suivant :

Hydrates de carbone	Variétés					
	Schenk	1-α-R	2-β-g	3-γ-N	Rossignol	4-L-Δ.
Glycérine	+	+	+	+	+	+
Mannite	—	—	—	—	—	—
Dulcite	—	—	—	—	—	—
Glucose	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	»	+	»	»	—
Saccharose	—	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	—
Lactose	+	—	—	—	—	—
Dextrine	—	—	—	—	—	—
Inuline	+	+	+	+	+	—
Amidon	+	»	+	»	»	—

Paris, le 4 mai 1909.

Vu :
Le Doyen,
D. LANDOUZY.

Vu :
Le Président,
RAYMOND.

Vu et permis d'imprimer :
Le vice-recteur de l'Académie de Paris,
L. LIARD.

61329. — Imprimerie Lahure, 9, rue de Fleurus, à Paris.